

RECHERCHES SUR LA FLORE BACTÉRIENNE DES LAITS DE CONSERVE EMPLOYES POUR L'ALIMENTATION DES NOURRISSONS

TRAVAIL DE LA CLINIQUE MÉDICALE INFANTILE
DU PROFESSEUR P. GIRAUD
ET DU LABORATOIRE D'HYGIÈNE DU PROFESSEUR H. VIOLLE

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale
et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 9 Mai 1940

PAR

Yvette-Renée BLANC

Née le 17 Décembre 1913, à Marseille

Interne des Hôpitaux

Diplômée d'Hygiène

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

Examineurs
de la Thèse

MM. les Professeurs :

L. CORNIL, *président*
P. GIRAUD
H. VIOLLE
D. OLMER

Assesseurs

MARSEILLE

IMPRIMERIE DE LA SOCIÉTÉ DU « PETIT MARSEILLAIS »
19, Cours du Vieux-Port, 19'

1940

**RECHERCHES SUR LA FLORE BACTERIENNE
DES LAITS DE CONSERVE
EMPLOYES POUR L'ALIMENTATION DES NOURRISSONS**

RECHERCHES SUR LA FLORE BACTÉRIENNE DES LAITS DE CONSERVE EMPLOYES POUR L'ALIMENTATION DES NOURRISSONS

TRAVAIL DE LA CLINIQUE MÉDICALE INFANTILE
DU PROFESSEUR P. GIRAUD
ET DU LABORATOIRE D'HYGIÈNE DU PROFESSEUR H. VIOLLE

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale
et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 9 Mai 1940

PAR

Yvette-Renée BLANC

Née le 17 Décembre 1913, à Marseille

Interne des Hôpitaux

Diplômée d'Hygiène

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

Examineurs de la Thèse	{	MM. les Professeurs :	
		L. CORNIL, <i>président</i>	} Assesseurs
		P. GIRAUD	
		H. VIOLLE	
		D. OLMER	

MARSEILLE
IMPRIMERIE DE LA SOCIÉTÉ DU « PETIT MARSEILLAIS »
19, Cours du Vieux-Port, 19°

1940

PERSONNEL DE LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : Lucien CORNIL

Assesseur : A. CHEVALLIER

Doyen honoraire : L. IMBERT

Professeurs honoraires : MOITESSIER, CASSOUTE

Chargés de Cours honoraires : TIAN, BRUN

Secrétaire : J. COMTE

Bibliothécaire : M^m GEORGE

Professeurs

Anatomie	MM. CORSY
Anatomie pathologique et Pathologie expérimentale	CORNIL
Bactériologie	ROUSLACROIX
Chimie analytique et hydrologie	RIMATTEI
Chimie médicale	ROCHE
Clinique chirurgicale	FIOLLE
Clinique chirurgicale	BOURDE
Clinique exotique	HECKENROTH
Clinique des maladies nerveuses	ROGER
Clinique médicale	AUDIBERT
Clinique médicale	OLMER
Clinique médicale	MATTEI
Clinique médicale infantile	GIRAUD
Clinique obstétricale	VAYSSIÈRE
Clinique ophtalmologique	AUBARET
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique	BREMOND
Clinique urologique	CHAUVIN
Histoire naturelle	GABRIEL
Histologie	ROMIEU
Hygiène générale et coloniale	VIOLLE
Médecine légale	MOSINGER
Parasitologie	JOYEUX
Pathologie interne	MONGES
Pharmacodynamie et Matière médicale	F. MERCIER
Pharmacie	VIGNOLI
Physiologie	COTTE
Physique	CHEVALLIER
Thérapeutique	GAUJOUX
Stomatologie (Professeur sans chaire)	BELTRAMI
Physiologie (Professeur sans chaire)	MALMEJAC

Chargé de Cours

Clinique dermatologique	M. VIGNE
-------------------------------	----------

Agrégés en exercice

MM. J. PIERI, JAYLE, MOIROUD, CARCASSONNE, BERTHIER, POINSO
DUBOULOZ, SAUTET, BALANSARD, BRAHIC, FIGARELLA, SALMON, PAILLAS
ARNOUX, DELPHAUT, IMBERT, AUDIER, CHOSSON, DOR, RECORDIER

Agrégé libre

M. QUINTARET

Chargé des fonctions d'agréé

Chimie médicale	M. DERRIEN
-----------------------	------------

Chargés de Cours complémentaires

Anatomie descriptive et topographique	MM. SALMON
Chimie minérale	ARNOUX
Médecine du travail	PERIOT
Médecine opératoire	DOR
Microbiologie	QUINTARET
Obstétrique	CHOSSON
Pharmacodynamie aux Pharmaciens	DELPHAUT
Psychiatrie	ALLIEZ
Toxicologie	GUILLOT



A MON PERE ET A MA MERE

*Pour une bien faible part de l'affec-
tion et de la confiance dont ils nous
entourent.*

A MON FRERE MAURICE

A MON ONCLE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MES COUSINS

A MONSIEUR ET MADAME DOUMAIN

A MONSIEUR LE DOYEN L. CORNIL

*Pour le grand honneur qu'il nous fait
en acceptant de présider ce Jury.*

*Son heureuse influence à la Faculté
comme dans les laboratoires des Hô-
pitaux, nous facilite grandement nos
études. Nous lui exprimons respectueu-
sement notre entière reconnaissance.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. GIRAUD

Professeur de Clinique Médicale Infantile

Il nous avait confié ce travail avant la guerre. Nous espérons ne pas le décevoir. Les circonstances nous obligent à devenir un peu plus rapidement docteur en Médecine. Nous tâcherons de continuer par la suite la voie qu'il nous trace quotidiennement par son exemple.

C'est tout ce que nous pouvons dire pour témoigner de notre respectueuse estime.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR H. VIOLLE

Professeur d'Hygiène à la Faculté

Son accueil dans le laboratoire nous a permis de travailler sous sa direction. Qu'il veuille trouver ici notre profonde gratitude pour les conseils qu'il a bien voulu nous donner, et qu'il nous permette d'admirer son activité dans ses recherches comme dans l'organisation pratique et sociale de l'Hygiène.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR D. OLMER

Professeur de Clinique Médicale

Dans son service nous avons été stagiaire et très jeune interne. Nous avons pu ainsi admirer ses hautes qualités cliniques et profiter de son bel enseignement.

A NOS MAITRES DANS LES HOPITAUX

MONSIEUR LE PROFESSEUR AUBARET

MONSIEUR LE PROFESSEUR BREMOND

MONSIEUR LE PROFESSEUR MOIROUD

MONSIEUR LE DOCTEUR DE VERNEJOUL

MONSIEUR LE PROFESSEUR FIOLE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GIRAUD

MONSIEUR LE PROFESSEUR MONGES

*Dont nous avons eu l'honneur d'être
l'externe.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR D. OLMER

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. OLMER

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BOURDE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GIRAUD

A MONSIEUR LE DOYEN CORNIL

A MONSIEUR LE DOCTEUR CIAUDO

A MONSIEUR LE PROFESSEUR VIGNES

A MONSIEUR LE DOCTEUR CALAS

*Dont nous avons eu l'honneur d'être
l'interne.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR HAIMOVICI
Ancien Interne des Hôpitaux

Qui nous a préparé à l'Externat.

A MONSIEUR LE DOCTEUR G. DUMON
Médecin des Hôpitaux

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. FIGARELLA
Professeur agrégé à la Faculté

A MONSIEUR LE DOCTEUR H. LLUCIA
Chef de Clinique Chirurgicale

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. BOUDOURESQUES
Chef de Clinique Médicale

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. LAMY
Interne des Hôpitaux

Qui nous ont préparé à l'Internat.

A NOS MAITRES DE LA FACULTE

A MONSIEUR LE DOCTEUR BOCCA

A MONSIEUR LE DOCTEUR PLACIDI

A NOTRE AMI RENÉ VOISIN

Externe des Hôpitaux

Mort d'une maladie contractée à l'hôpital

Sa délicate amitié nous l'a fait profondément regretter.

AUX AMIS AVEC QUI J'AI PRÉPARÉ LES CONCOURS

A MES CAMARADES D'INTERNAT

A CEUX QUI ONT VECU AVEC MOI

CES PREMIERS TEMPS D'INTERNAT DE GUERRE

Introduction

Les troubles digestifs sont, chez les nourrissons, un danger vital.

Les combattre est une des principales ambitions de tout pédiatre.

Les moyens sont nombreux, les plus totalement efficaces sont ceux qui agissent préventivement.

L'hygiène alimentaire du nourrisson est une chose essentielle.

Comment prévenir les troubles digestifs d'origine alimentaire, dans un allaitement artificiel, si ce n'est en se souciant de la préparation du biberon ?

Il paraît parfaitement inutile d'avoir comme point de départ un bon lait au point de vue bactériologique si, ensuite, on le souille abondamment dans les diverses manipulations ou bien si on le conserve dans de mauvaises conditions.

Nous allons faire quelques recherches bactériologiques sur des laits de conserve, dès l'ouverture de la boîte, dans les heures suivantes, sur des laits préalablement dilués ou non et gardés, au cours de ces analyses, sous des températures différentes.

C'est là le but de notre travail tel que nous l'a confié M. le Professeur Giraud. L'intérêt en est immense ; il suffit de suivre quelques mois les services de Médecine Infantile pour être pénétré de cette idée. C'est encore, malgré les très nombreux et éminents travaux parus jusqu'à ce jour, un sujet où l'on peut toujours puiser.

Avant d'arriver à nos analyses personnelles, nous avons tenu à montrer, d'une façon générale, le danger microbien de tous les laits. M. le Professeur Violle nous a guidé dans cette étude.

Voici donc le plan que nous avons suivi :

Dans un premier chapitre, nous rappelons la flore microbienne que l'on peut trouver dans le lait, son origine.

Les fluctuations de cette flore, suivant les conditions de récolte et de transport.

Nous savons que, même dans des conditions de préparation parfaites, il n'y a pas de lait qui ne contienne un grand nombre de germes dès la traite. Le transport, les manipulations augmentent ce nombre. Les moyens de défense dont nous disposons peuvent les supprimer en partie, mais il en reste toujours, vivants ou morts.

De plus, le lait est un excellent milieu de culture ; dans une boîte de lait de conserve, on pourra observer la progression des germes.

Un deuxième chapitre clinique nous permettra de citer les principales épidémies dues au lait et de comparer, à l'aide d'observations, la fréquence relative des troubles digestifs chez l'enfant nourri aux laits de conserve par rapport au lait de vache frais.

Ensuite, nous envisageons les diverses préparations que l'on fait subir aux laits dits de conserve.

Dans une quatrième partie, nous énumérons les principaux procédés de recherches pour apprécier la teneur microbienne d'un lait.

Nous indiquons nos résultats en précisant les conditions d'obtention. Ce qui nous intéresse, c'est la différence entre les premières analyses dès l'ouverture de la boîte et dans les heures suivantes.

Puis, nous concluons pratiquement.

CHAPITRE PREMIER

Flore microbienne du Lait

Le Congrès National de la Répression des Fraudes a donné du lait la définition suivante : « Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ».

Donc, théoriquement, nous ne devrions constater la présence d'aucun germe dans le lait. Il n'en est pas ainsi pratiquement.

Nous allons envisager l'origine de différents microbes contenus dans le lait.

Nous précisons que cette étude est valable pour tous les laits. Les préparations ultérieures sont différentes, mais les conditions de récolte varient peu d'un lait vendu cru à un lait de conserve.

Deux grandes classes de contamination : les contaminations intérieures, les contaminations extérieures.

CONTAMINATIONS INTERIEURES

Il est un fait bien connu que le lait est déjà contaminé dans la mamelle. On ne peut donc, quelles que soient les précautions d'asepsie et de propreté, obtenir pratiquement un lait privé de germes.

Preuve expérimentale : mamelle de génisse saine et vigoureuse toujours enveloppée, trayons toujours soigneusement capuchonnés. Or, ces mamelles ne fonctionnent pas, donc pas de risque de contamination extérieure.

Résultats : une dizaine de germes par cc.

Origine de ces germes : le sang, les affections de la mamelle, les autres affections où la mamelle peut jouer le rôle d'émonctoïre (tuberculose-brucellose).

En principe, nous ne devrions pas envisager les microbes pathogènes de contamination intérieure, car la traite des animaux malades est défendue. Mais souvent des diagnostics de maladie ne sont pas faits à temps. (On reconnaît actuellement la mamelle comme source possible de colibacilles dans les quelques heures qui précèdent l'apparition des signes cliniques de mammite).

L'expérience ci-dessus limite le nombre de germes à un taux que l'on n'obtiendra jamais dans la pratique, car la mamelle fonctionnant, il faut immédiatement ajouter l'infection par voie ascendante. Les gouttelettes de lait qui, après la traite, restent à l'extrémité du trayon sont peuplées de micro-organismes ; ceux-ci peuvent remonter dans le canal et se développer dans la mamelle. La voie cutanée est aussi un bon agent de transmission.

Il y a naturellement une défense locale de l'organisme contre ces agents infectieux. Réaction locale qui réussit à établir un équilibre : des microbes banaux dépourvus de virulence sont détruits ; les espèces plus virulentes résistent, mais sont atténuées et incapables de produire des troubles pathologiques, ce sont des microcoques, des streptocoques. Si les réactions de la mamelle faiblissent, ils reprennent leur virulence ; leur similitude avec les espèces pathogènes s'accroît : ils deviennent des microcoques et des streptocoques pyogènes.

A quel chiffre moyen de micro-organisme arrivons-nous, si le lait est considéré comme recueilli aseptiquement : de 100 à 500 micro-organismes par cc dont 200 à 500 micro-organismes de contamination dite intérieure.

Si nous examinons le cas idéal de l'allaitement maternel, nous arrêterions là nos considérations sur la flore microbienne du lait, mais il n'en est pas ainsi, et nous allons envisager maintenant :

CONTAMINATIONS EXTERIEURES

Elles sont directement proportionnelles aux conditions d'hygiène qui président à la récolte et au transport du lait.

1° Variations suivant les conditions de récolte

Il faudra considérer tous les facteurs présents au moment de la traite :

— *Le pis de la vache :*

Le lait recueilli avec pis lavé, variation de 540 à 670 germes par cc ;

Si le lait est recueilli avec le pis non lavé, 148.000 à 185.000 germes par cc.

— *Les mains de la personne qui trait :*

Mains propres ou souillées, danger des germes pathogènes. Importance dans la transmission des épidémies.

— *La paille, le fumier environnants :*

Harrison a dit : « Il tombe 20.000 germes par minute dans le seau à traire, si le fumier est remué et la paille étendue pendant la traite, et il n'en tombe plus que 1.000 pendant le même temps, si ces opérations ont eu lieu une heure à l'avance ».

En effet, le fourrage contient toujours des micro-organismes dont beaucoup résistent aux digestions gastriques et intestinales et se retrouvent dans les excréments.

D'autre part, l'urine fraîche est stérile, mais mélangée à la litière, constitue un excellent milieu de culture, la fermentation augmente la température et la sélection des espèces thermophiles se fait (quelquefois plusieurs centaines de millions par gramme de fumier).

— *Les bidons qui reçoivent le lait :*

Bidons lavés : moyenne de 250.000 à 700.000 germes par cc si bidons non lavés ;

Augmentation de 280.000 à 800.000 en été. En hiver, on note, dans les mêmes conditions, une variation de 50 à 65 jusqu'à 200 à 300 germes par cc.

Il faut compter aussi sur le danger des particules de poussières, la terre contenant plusieurs millions de microbes par gramme, la présence de mouches constante en été, dans les pays chauds et tempérés. Il faut encore ajouter les germes pulmonaires ou rhinopharyngés des manipulateurs et ceux possibles apportés par un mouillage frauduleux.

Le tout multiplié par le nombre d'éléments, si l'on pratique le mélange immédiat de différents laits.

2° Variations suivant les conditions de transport

Deux facteurs principaux : la durée, la température. Ces deux facteurs sont intimement liés ; nous ne les séparons pas. L'importance de la durée amène des conséquences plus ou moins graves suivant la température. De toutes façons, le transport doit être rapide. Ceci semble logique et la vérification bactériologique en a été faite.

Les usines de fabrication industrielle de lait qui utilisent la production locale sont, par conséquent, dans les conditions les plus favorables.

Voyons la justification de la brièveté du transport.

Nous savons qu'il existe un pouvoir anti-microbien dit pouvoir bactéricide dans le lait. Ce pouvoir va empêcher l'augmentation du nombre de bactéries, il va même détruire certaines bactéries. Deux points sont à considérer :

Quand ce pouvoir bactéricide est-il le plus actif ?

Sous quelle température ?

C'est de 0 à 6 heures après la traite que des analyses successives et nombreuses ont montré une diminution nette du nombre des bactéries. (Il est bien évident que le lait, pendant l'intervalle de ces analyses, ne subit aucune manipulation et conserve une température voulue). Après 6 heures, augmentation nette des éléments bactériens. Donc, activité maxima du pouvoir bactéricide entre 0 et 6 heures. On a même constaté que dans un flacon stérile, on pouvait observer le même nombre de germes après un intervalle de 8 heures.

Cette faculté de défense contre l'invasion microbienne s'intensifie aux basses températures. Ce résultat est dû, non pas à ce

que la réaction de défense est réellement plus grande aux basses températures, mais à ce fait : à sa température optimum aux environs de 37°, le pouvoir bactéricide, si grand soit-il, ne peut résister au développement microbien, tellement rapide qu'il masque complètement les autres phénomènes.

Aux basses températures, la force de la réaction de défense est moins diminuée relativement à l'activité de reproduction bactérienne, donc le résultat de la lutte est bien meilleur ; le pouvoir bactéricide ne nous intéressant pas en valeur absolue, mais seulement en sa valeur relative, lorsqu'il peut vaincre le développement microbien.

On peut voir d'ailleurs la faiblesse et la faillite de ce pouvoir bactéricide si l'on considère que, d'une façon générale, sans précaution spéciale, au bout d'un transport de 3 heures, il y a une augmentation de germes de 50 %.

De plus, il est totalement détruit vers 70/75°. Si les laits ont été soumis à une première épreuve de chauffage, avant le transport, il devient totalement négligeable.

Envisageons les conditions matérielles de ce transport et notons les écarts de température auxquels peut être soumis un lait depuis l'étable jusqu'à l'usine.

S'il y a ramassage direct et bidons chargés sur le camion pour le transport à l'usine, la température est généralement comprise entre 5 et 35°. Si l'on emploie des wagons ou citernes isothermiques, régulation de cette température, mais souvent voyages plus longs, qui ont nécessité ce mode de transport. Quelquefois réfrigération entre 5 et 10° après la traite, conservation de cette température, d'où très bonnes conditions de transport.

Quelques moyennes illustrent les rapports de la durée du transport et de la température :

Après 15 heures,	100.000 germes à + 15°
	12.000.000 — à + 25°
	165.000.000 — à + 35°

Réellement, il est difficile d'obtenir moins de 10.000 germes par cc.

La plupart des laits de conserve constituent un milieu défavorable au développement de la majorité des germes, ils n'en conservent pas moins des bactéries originelles que la pasteurisation n'a pu détruire qu'en partie. Ceci nous explique la présence, dans

certaines produits, d'une flore microbienne abondante et variée. Pour Lassablière, le nombre des bactéries trouvé dans les échantillons de laits condensés sucrés varie entre 300 et 82.000 germes par cc, suivant, naturellement, les conditions d'hygiène de ramassage, sans vouloir y associer les conditions de fabrication.

Nous n'avons parlé jusqu'ici que de numérations globales. La nature de ces germes peut-elle varier suivant ces mêmes conditions de récolte et de température ? C'est évident, et nous allons le voir.

On peut trouver dans le lait des germes saprophytes normaux, des germes pathogènes seulement dans les mauvais laits. Nous parlons immédiatement de ces derniers ; ne nous y attardons pas, les germes pathogènes ne devant pas exister dans les laits de conserve. Exceptionnellement, nous pourrions avoir :

- le bacille tuberculeux humain et bovin ;
- le bacillus melitensis ;
- le bacille de Loeffler ;
- le virus de la scarlatine ;
- le bacille du choléra ;
- le bacille d'Eberth et tous les salmonella.

Parmi les germes saprophytes, nous pouvons faire des classifications. Voici les principaux :

Les ferments lactiques : bacillus acidilacticis, bacterium lactis aérogènes.

Les autres ferments : butyriques, visqueux, propioniques, valériques, les ferments de la caséine aérobies ou anaérobies et on peut souvent compter le bacillus subtilis.

Quels sont les différents représentants de ces saprophytes sous des températures différentes ?

Au-dessous de 5°, prédominance de petits bacilles donnant sur milieu neutre ou alcalin une fluorescence ;

Entre 5 et 10°, bacilles du groupe proteus, microcoques et bâtonnets donnant au lait des odeurs de fruits ;

Entre 10 et 15°, apparition des ferments lactiques, métacoques et streptocoques et quelques espèces aérogènes ;

Entre 15 et 30°, développement des bons ferments lactiques : streptocoques et bâtonnets ;

Ensuite, on atteint les températures du corps de l'animal et les ferments de l'intestin pullulent. Ils sont déjà plus dangereux ; ce sont des microbes producteurs de gaz, se rattachant au groupe du bacillus coli et bacillus lactis aérogènes : bacille coli (*Escherichia coli*) contamination par les matières fécales ; *aerobacter* aérogènes, *aerobacter cloacæ* (présence dans le sol et dans l'eau). Ces bacilles ne sont pas sporulés et disparaissent avec la pasteurisation. S'il y a réapparition, c'est qu'il y a souillure nouvelle. Au-dessus de 40 et 55°, ce sont des streptocoques et encore des bacilles lactiques.

Cette énumération montre qu'à partir de 10°, nous avons surtout des ferments lactiques comme flore normale du lait.

A la fin de ce premier chapitre, nous avons entrevu la quantité et la nature des germes que nous pouvons trouver. Nous sommes obligés de dire, encore une fois, toute l'importance d'une récolte parfaite pour le résultat bactériologique ultérieur de nos laits de conserve.

CHAPITRE II

Danger microbien du lait

Il est différent, comme importance, chez le nourrisson et chez l'adulte. Envisageons-le, tout d'abord, en général.

Le lait est agent-vecteur de nombreuses épidémies. La plupart de celles que nous allons citer sont dues au lait cru, mais nous en parlerons pour illustrer abondamment le danger microbien du lait et l'intérêt d'obtenir un lait non souillé.

Les maladies transmises, le sont d'une façon évidente, si les animaux sont malades. Le Comité des Epizooties propose de considérer les maladies suivantes comme rendant le lait impropre à la consommation :

A) La tuberculose, la mélitococcie, la fièvre charbonneuse, le charbon symptomatique et les gangrènes gazeuses, la peste bovine, la péri-pneumonie, la rage, la vaccine, la fièvre aphteuse ;

B) Les maladies dénoncées par des symptômes graves tels que la fièvre, le très mauvais état général ou la cachexie, le trouble manifeste de la sécrétion lactée ;

C) Les mammites, les métrites, les entérites, les intoxications, la maladie des drèches et la maladie des pulpes, les abcès ou la furonculose de la mamelle et des trayons.

Mais souvent, il faut le résultat d'une enquête épidémiologique sévère pour définir l'agent de propagation.

Voici quelques maladies qui mettent en évidence certaines particularités épidémiques :

La mélitococcie. — Les épidémies sont nombreuses et bien connues.

La fièvre aphteuse, que nous mettons immédiatement après, car l'idée de la propagation de la maladie à l'homme est répandue.

Cependant, la preuve certaine n'en a pas été donnée. On a seulement remarqué que le nourrisson était plus réceptif que l'adulte et qu'en milieu épidémique il présentait une gastro-entérite s'accompagnant de petites vésicules épidermiques. De plus, au début de la maladie, le lait contiendrait l'agent pathogène.

La fièvre typhoïde. — Les épidémies de fièvre typhoïde d'origine laitière sont décrites. Exemple : 700 cas centrés sur un pâturage irrigué par un ruisseau voisin d'une ferme où habite un porteur de germes. Transmission des germes pathogènes par le bétail, soit directement par les mamelles souillées, ou bien le bacille d'Eberth est ingéré et éliminé par les urines. C'est l'exemple même de l'épidémie où il faut chercher patiemment la cause. La femme du laitier étant décédée de fièvre typhoïde, ce fut le point de départ.

Une pathogénie identique serait possible pour le choléra.

La scarlatine. — Transmise par les mains de la personne qui traite. Exemple : enfant atteint d'une otite scarlatineuse, la maladie est transmise par la mère qui traite les vaches. Epidémie localisée parmi les gens qui boivent ce lait.

Les syndromes dysentériques. — La preuve de la contamination est faite. On a trouvé le même bacille dans les selles des malades et dans le lait distribué.

Les angines et notamment la diphtérie. — Ce mode de contamination indirecte de la diphtérie est peu connu.

La poliomyélite. — On retrouve dans le lait un streptocoque polymorphe caractérisé par un pouvoir infectant considérable et des propriétés immunologiques particulières.

Empoisonnements alimentaires. — Salmonellose due, dans une épidémie caractéristique, au type « Dublin » ; 100 cas où le germe a été identifié par agglutination.

La tuberculose. — Si on considère que 20 à 25 % du cheptel bovin a une réaction à la tuberculine positive, on voit tout le danger de la contamination bacillaire.

Voici une statistique importante faite en Ecosse en 1934 : 1.534 échantillons sont examinés : 10 % contiennent des bacilles de Koch, dont 5 % dans des laits de commerce de détail et 2.8 % dans des laits pasteurisés.

Actuellement, le rôle prépondérant de la tuberculose bovine est mis en évidence. Traduction clinique par des formes ganglionnaires, méningées (Lesné) et osseuses.

Nous ne parlons pas de la gastro-entérite des nourrissons, car nous allons en parler dans la deuxième partie de ce chapitre.

Pour terminer cette énumération, nous mentionnons cette statistique américaine de 1934, relative à la fréquence des cas d'origine laitière :

Fièvre typhoïde	25 sur 299
Paratyphoïde	1 » 400
Scarlatine	3 » 131
Angine	6 » 347
Diphthérie	1 » 9
Gastro-entérite	2 » 72
Empoisonnements par ptomaïne ..	3 » 220

La gravité relative de ces cas nous est donnée par une statistique française de 1934, se rapportant à peu près aux mêmes maladies ; tous les cas envisagés étant d'origine laitière :

	FOYERS	CAS	MORTS
	—	—	—
Fièvre typhoïde	25	229	26
Paratyphoïde	1	17	0
Diphthérie	2	19	3
Angine	7	515	5
Scarlatine	3	238	4
Maladies du lait	2	10	1
Cocci-mammaires	2	250	0

*
* *

Chez le nourrisson, nous pouvons identifier quelques-unes de ces maladies, notamment la primo-inoculation tuberculeuse par voie intestinale, due au lait, est une chose admise et fréquente.

Voyons les gastro-entérites.

Très étudiées durant ces dernières années, où le syndrome cholériforme a pris le premier plan, dans toutes les descriptions cliniques, dans les recherches pathogéniques et thérapeutiques.

Premier plan qu'il doit garder à cause de sa gravité et de la rapidité foudroyante de son évolution.

Heureusement, toutes ces gastro-entérites non spécifiques ne vont pas jusqu'au syndrome cholériforme. Un point est déterminé : on ne peut identifier leurs germes, on incrimine tour à tour le bacille de Flexner, de Strong, le coli, le bacille d'Eberth et le paratyphique, sans les affirmer.

Voyons la part de la mortalité infantile qui revient à ces troubles digestifs. Pour avoir des statistiques complètes, nous sommes obligé de remonter à l'enquête de Robert Debré, en 1927-1928, sous les auspices du Comité d'Hygiène de la Société des Nations. Enquête qui comprend 25 districts, aussi bien français qu'étrangers, qui est faite uniquement sur des enfants de moins de un an. Le tableau suivant classe les causes de décès :

Troubles obstétricaux	{	Péril congénital mineur.
Prématuration		
Troubles digestifs		Péril alimentaire.
Maladies infectieuses		Péril infectieux.
Maladies non microbiennes	{	Divers.
Maladies congénitales		
Accidents graves et autres		
Causes déterminées		
Causes inconnues		

Les nombres de décès sont rapportés à 100 naissances vivantes, de façon à constituer des taux comparables entre eux. On arrive ainsi à la table de mortalité que nous mettons ensuite :

Taux (pour 100 naissances vivantes)

	FAIBLES	MODÉRÉS	FORTS	TRÈS FORTS
Péril congénital	moins de 1	1 à 1,99	2 à 2,99	3 et plus
Péril alimentaire	moins de 0,5	0,5 à 0,99	1 à 1,49	1,5 et plus
Péril infectieux	moins de 1,5	1,5 à 2,49	2,5 à 3,49	3,5 et plus
Divers	moins de 1	1 à 1,49	1,5 à 1,99	2 et plus
Mortalité infantile totale	moins de 4	4 à 6,99	7 à 9,99	10 et plus

En France, un de nos districts donnait, pour le péril alimentaire 0,90, donc modéré ; un autre 1,53 et un autre 2,20, donc très forts.

Nous sommes obligé de reconnaître que nous étions loin d'avoir la meilleure moyenne. Toutefois, statistique améliorée sur les précédentes, le progrès, dans cette voie, ne s'est pas arrêté, comme nous le montrons en conclusion de ce chapitre.

Jusqu'ici, nous n'avons pas considéré le mode d'allaitement. Il a cependant toute son importance.

Les enfants nourris au sein ne présentent jamais de troubles digestifs graves avec atteinte de l'état général, jamais de signe d'intoxication. C'est ce que nous avons pu noter sur des cas très nombreux, lors de notre passage à la Crèche Départementale, où les enfants nourris correctement au sein, dans la section de l'Abri Maternel, ne nous ont pas donné d'inquiétude au point de vue digestif.

Le tableau suivant, pris dans une communication à l'Office International d'Hygiène Publique, session d'avril 1939, nous donne la proportion et la gravité relative de l'allaitement au sein et de l'allaitement au biberon :

	SEIN OU ALLAITEMENT MIXTE	BIBERON	ALIMENT. INCONNUE	TOTAL
Total	120	292	5	417
Décès	62	190	2	254
Guérison	57	89	2	148
Suites inconnues	1	13	1	15

De tels chiffres nous montrent la gravité plus grande de l'allaitement artificiel.

Les observations que nous allons donner, prises dans le service de M. le Professeur Giraud, vont maintenant, dans l'allaitement artificiel, indiquer un aperçu de la fréquence des troubles digestifs, suivant le lait employé.

Elles sont récentes, peu nombreuses, mais à dessein, de façon à ne parler que de troubles digestifs purs sans prodrome apparent infectieux sur un autre appareil. Elles comprennent naturellement plusieurs syndromes cholériformes qui sont des types cliniques évidents de troubles digestifs. Par conséquent, ce sont surtout des cas graves.

Sur 18 cas envisagés, 11 sont dus au lait de vache
4 » » condensé
1 est dû » en poudre
2 restent indéterminés.

Lait de vache

OBSERVATION I. — V... Antoine, 4 mois. Entre le 2 septembre 1939 pour vomissements et diarrhée. Température 40°8. Poids 4 kg 520. Alimentation : sept biberons de 120 gr. de lait de vache.

Examen somatique négatif.

Diverses analyses sont pratiquées : analyse urine négative.

Examen oto-rhino-laryngologique : négatif.

Radiographie pulmonaire : négative.

Cuti-réaction à la tuberculine : négative.

Sort le 23 septembre 1939 : guéri ; poids 5 kg 130.

Dans le service : suppression du lait de vache ; farine maltée les premiers jours, puis lait en poudre repris progressivement.

OBSERVATION II. — S... André, 2 mois $\frac{1}{2}$. Entre le 6 décembre 1939 pour vomissements et diarrhée ayant débuté six jours auparavant. Alimentation : lait de vache bouilli 15 minutes. Température 40°3. Facies cholériforme. Con tracture

Antécédent maternel, pleurésie récente mais

Cuti-réaction : négative.

Radiographie pulmonaire : négative.

Ponction lombaire : liquide normal.

Décédé le 9 décembre 1939.

OBSERVATION III. — C... José, 4 mois. Entre le 4 novembre 1939 pour vomissements. Température 40°2. Poids 5 kg 500. Alimentation : six biberons de 150 gr. de lait de vache composés ainsi : 25 gr. eau, 125 gr. lait.

Examen somatique : négatif.

Examen oto-rhino-laryngologique : négatif.

Radiographie pulmonaire : négative.

Cuti-réaction : négative.

Sort le 16 novembre 1939 : selles encore légèrement liquides, amélioration dans les derniers jours ; poids 5 kg 590.

Dans le service, alimentation : farine maltée, puis lait condensé sucré.

OBSERVATION IV. — M... François, 1 an. Entre le 19 octobre 1939 pour diarrhée et vomissements. Température : clocher à 39° qui se renouvellera les jours suivants. Poids 5 kg 800. Alimentation : $\frac{3}{4}$ de litre de lait de vache par jour.

Examen : quelques râles bronchiques à la fin du séjour hospitalier.

Examen oto-rhino-laryngologique : négatif.

Radiographie pulmonaire : normale.

Cuti-réaction : négative.

Sort le 23 novembre 1939 : guéri ; poids 5 kg 930.

Alimentation dans le service : farine dans les premiers jours, puis lait condensé sucré.

OBSERVATION V. — C... Vincent, 1 mois. Entre le 4 septembre 1939 pour selles nombreuses liquides, sans vomissement. Poids 3 kg 100 ; Hypothermie. Alimentation : lait de vache pur.

Antécédents bacillaires douteux mais

Radiographie pulmonaire : négative.

Cuti-réaction : négative.

Somnolence ; déshydratation.

On installe une perfusion, mais décès le 7 septembre 1939.

OBSERVATION VI. — R... André, 2 mois. *1^{er} séjour* : Entre le 22 septembre 1938 pour selles très nombreuses (20 par jour) et vomissements. Température 41°, chute en 24 h. à 37°, puis nouveau clocher. Poids 4 kg 600. Alimentation : depuis un mois lait de vache, mis au lait condensé sucré dans les heures qui ont précédé l'entrée à l'hôpital.

Cuti-réaction : négative.

Analyse d'urine : présence d'albumine, sang, quelques colibacilles.

Infection urinaire secondaire.

Examen oto-rhino-laryngologique : négatif.

Alimentation : farine à l'eau.

Rehydratation.

Sort le 6 octobre 1938 : guéri ; poids 4 kg 400.

2^{me} séjour : du 24 octobre 1938 (poids 5 kg 180), au 4 novembre 1938 (poids 5 kg 850).

Cuti-réaction : négative.

On ne constate pas, lors de ce séjour, de troubles digestifs.

OBSERVATION VII. — K... Paul-André, 1 mois et 20 jours. Entre le 22 juillet 1939. Décédé deux heures après son admission.

Interrogatoire des parents difficile.

Température 40°.

Alimentation : biberon de lait de vache toutes les trois heures.

Cliniquement : aspect typique du choléra infantile.

OBSERVATION VIII. — A... Maryse, 9 mois. Entre le 22 août 1939 pour diarrhée. Température 38° puis chute rapide. Poids 7 kg 100. Alimentation : lait de vache.

Dans le service, angine blanche et persistance de la diarrhée.

Sort le 27 août 1939, poids 6 kg 900.

Régime : farine à l'eau. Rehydratation.

OBSERVATION IX. — C... Louis, 3 mois $\frac{1}{2}$. Entre le 17 novembre 1939 pour selles liquides très fétides et quelques vomissements. Température 38°6. Poids 4 kg 590. Alimentation : six biberons de 130 gr gr., avec : 90 gr. d'eau et 40 gr. de lait de vache.

Examen : négatif.

Examen oto-rhino-laryngologique : négatif.

Cuti-réaction : négative.

Sort le 30 novembre 1939 : guéri apyrétique ; poids 5 kg 080.

Régime : farine à l'eau, puis lait en poudre.

OBSERVATION X. — S... Anne-Marie, 1 mois $\frac{1}{2}$. Suivie depuis le 15 octobre 1939 par le service pour diarrhée verte, vomissements depuis cinq jours. Chute de poids : 200 gr. en une semaine. Alimentation : depuis la naissance sein, puis lait condensé sucré, puis lait de vache depuis quinze jours.

Entre à l'hôpital le 18 octobre 1939. Apyrexie mais nouvelle chute de poids de 250 gr.. Poids 2 kg 750.

Examen : négatif.

Régime : farine à l'eau. Rehydratation.

Décès le 20 octobre 1939.

OBSERVATION XI. — L... Jean, 2 mois. Entre le 28 décembre 1938 pour vomissements. Apyrexie. Poids 4 kg 850. Alimentation : biberons avec 30 gr. d'eau et 60 gr. de lait de vache, puis tisane de farine avec lait de vache.

Examen : négatif.

Examen oto-rhino-laryngologique : négatif.

Cuti-réaction : négative.

Sort le 8 janvier 1939 : poids 4 kg 980.

Régime : biberon, farine et lait en poudre.

Lait condensé sucré

OBSERVATION XII. — L... Jean, 4 mois $\frac{1}{2}$. Entre pour vomissements et diarrhée. Température 39°2. Alimentation : huit biberons de 150 gr. avec 4 cuillerées à café de lait.

Examen : Infiltration ; aspect fruste de syndrome cholériforme.

Cuti-réaction négative.

Radiographie pulmonaire négative.

Selles colitiques.

Décédé le 10 novembre 1939.

OBSERVATION XIII. — R... Denise, 2 mois. Entre le 14 Septembre 1939 pour vomissements et diarrhée verte. Pas de fièvre à l'entrée, le lendemain 38°5. Poids 4 kg 575. Alimentation : six biberons de 120 gr. avec 30 gr. de lait.

Cuti-réaction : négative.

Sort le 8 octobre 1939 : guérie ; poids 4 kg 770.

Régime : farine à l'eau, puis lait condensé.

OBSERVATION XIV. — C... Cyprien, 3 mois. Entre le 2 août 1939 pour diarrhée très abondante et fétide. Température oscillante entre 40° et 41°. Poids 5 kg 900. Alimentation : biberon de 180 gr. avec 3 cuillerées à café de lait.

Examen oto-rhino-laryngologique : négatif.

Cuti-réaction : négative.

Analyse d'urine : présence de colibacilles (infection urinaire et intestinale).

Décédé le 13 août 1939 ; Poids 5 kg.

OBSERVATION XV. — C... Hilarion, 4 mois. Entre le 26 avril 1938 pour selles muco-sanglantes, vomissements depuis trois jours. Température 38° - 39°. Poids 5 kg 180. Alimentation : lait condensé sucré.

Cuti-réaction : négative.

Analyse de selles : négative.

Sort le 7 mai 1938 ; poids 5 kg 200.

Régime dans le service : farine à l'eau, pis lait condensé.

Lait en poudre

OBSERVATION XVI. — C... Jean, 14 mois. Entre le 10 octobre 1939 pour diarrhée sans vomissements. Dans l'interrogatoire, intolérance du lait en poudre. Température : 2 clochers à 38°6 et 38°2. Poids 5 kg 200.

Examen négatif.

Cuti-réaction négative.

Radiographie pulmonaire négative.

Sort le 21 octobre 1939 : guéri ; poids 5 kg 170.

Régime : farine et potages, puis reprise du lait condensé sucré.

Laits inconnus

OBSERVATION XVII. — F... Pierre, 2 mois. Entre le 10 novembre 1938 pour diarrhée. Poids 3 kg 350. Apyrexie.

Cuti-réaction négative.

Sort le 24 novembre 1938 : guéri ; poids 5 kg 550.

Régime : farine à l'eau, puis lait en poudre.

OBSERVATION XVIII. — G... Gabriel, 1 an. Entre le 19 novembre 1938 pour diarrhée. Poids 7 kg 850.

Examen.

Cuti-réaction négative.

Sort le 3 décembre 1938 : guéri ; poids 8 kg 100.

Régime : farine à l'eau, puis lait en poudre.

Il nous faut remarquer que, bien souvent, il y a erreur de doses ajoutée à la préparation défectueuse des biberons.

Il nous faut aussi constater l'amélioration des troubles digestifs de ces dernières années et le cas du jeune K... Paul-André, mourant deux heures après son admission à l'hôpital, est à peu près unique, tandis que dans les années précédentes, des malades semblables étaient fréquents en été.

Cette amélioration est-elle due à la floraison et à l'activité des

consultations de nourrissons, c'est probable ; de même, aussi, à l'emploi des laits industriels à la place du lait de vache frais.

Voici des moyennes s'étageant sur les années précédentes et présentées à l'Office International d'Hygiène Publique, session d'avril 1939, moyennes se rapportant au choléra infantile :

	CAS	MORBIDITÉ %	ORIGINE DIGEST. %	GUÉRISON %	ORIGINE INFECT. %	GUÉRISON %
1924	12	3,04	58,03	42	41,66	
1925	17	4,07	64,7	0,90	35,3	
de 1926 à 1934	25	0,20	48	16,6	52	
1935	27	3,90	23	43	77	45
1936	21	2,65	4,70	—	95,30	25
1937	22	3,30	9,09	50	90	25

En conclusion, ces moyennes montrent la diminution nette des cas d'origine digestive. Nous savons d'ailleurs aussi, que la mortalité infantile totale décroît : 25 % en 1895 et 6,6 % dans ces dernières années.

CHAPITRE III

Préparation industrielle des laits

Les qualités toujours nouvelles exigées des laits de conserve, employés pour l'alimentation des nourrissons, ajoutées au perfectionnement de leur fabrication, l'ont varié ces laits presque à l'infini.

Dans tout ouvrage traitant de ces produits, nous trouvons des descriptions complètes. Par conséquent, nous ne résumons que la fabrication des quatre laits que nous avons employés, au contraire de ce que nous faisons dans le chapitre suivant, où nous avons tenu à grouper et à décrire les divers procédés d'analyse. Nous insistons sur les détails de fabrication, qui ont une répercussion sensible sur la teneur bactérienne.

Le lait condensé sucré

Les premiers essais industriels remontent à 1810. Le Français N. Appert découvrit, 25 ans plus tard, le principe de la concentration du lait par le vide, et l'Anglais Newton imagina d'employer du saccharose pour assurer la conservation du lait concentré. « Il devenait ainsi inutile de recourir à des températures élevées dont l'action n'est pas négligeable sur les propriétés biochimiques et physico-chimiques de cet aliment, vivant par excellence, qu'est le lait ».

La première fabrique de lait condensé sucré fut fondée en Amérique, puis ce fut l'Europe avec la Suisse. La fabrication totale du lait commence à la récolte ; des inspecteurs contrôlent l'hygiène du bétail, son alimentation, sa propreté, celle des étables, la traite et la manutention du lait. Le liquide est refroidi aussitôt après la traite et expédié à l'usine, soit en wagon-citerne, en acier

inoxydable, ou dans des bidons fournis par le fabricant et nettoyés et stérilisés par lui.

Arrivé à l'usine, premier contrôle : filtration, aspect général, analyse bactériologique et chimique, degré d'acidité. Puis fabrication proprement dite.

Pasteurisation : basse, vers 60°, dans des appareils tubulaires permettant un chauffage modéré.

Concentration par ébullition dans le vide, après addition de sirop de sucre. Mélange fait dans une vaste chaudière appelée Vacuum où règne le vide. Violente ébullition sans que la température dépasse 50/55°. L'eau s'évapore, le mélange s'épaissit.

Refroidissement dans des appareils spéciaux où le lait est brassé plusieurs heures, afin de provoquer la cristallisation du lactose en cristaux suffisamment petits.

Le lait condensé sucré va directement dans des machines à remplir où s'effectue automatiquement la mise en boîte. Le sertissage du couvercle, l'étiquetage et l'emballage mécaniques.

C'est un lait simplement pasteurisé et concentré à une température peu élevée. Il conserve en partie ses bactéries originelles. On présente ainsi le lait condensé sucré. Se conserve quelques mois, boîtes fermées, mais pas longtemps après l'ouverture de la boîte. Lait non aseptique, reconstitué et abandonné à lui-même, s'altère rapidement.

Lait condensé non sucré

L'homogénéisation du lait a été inventée par Gaulin et perfectionnée par Lécuyer. Ce lait stérilisé évaporé est employé aux Etats-Unis, où Marriott y publie des résultats remarquables. Pendant longtemps la constitution physico-chimique du lait (émulsion de graisses très instable) a empêché le développement de l'industrie du lait stérilisé. « Le lait introduit dans une boîte de fer blanc étamé et chauffé dans un autoclave, se maintient indéfiniment stérile ; mais il ne reste pas homogène. Le beurre se rassemble en grumeaux compacts et le produit devient rapidement invendable ». Il fallait pratiquer l'homogénéisation dont nous décrivons les différentes phases. « Le lait est d'abord chauffé à 45°, afin de liquéfier la substance grasse qu'il contient. Les globules de beurre sont

alors fragmentés par un procédé mécanique ; les nouveaux globules sont tellement petits qu'ils ont une tension superficielle assez puissante pour contrebalancer la force ascensionnelle provenant de la différence de densité avec le sérum. C'est cette tension superficielle qui fera rebondir les globules les uns sur les autres et se repousser et maintiendra le mouvement brownien. L'émulsion de graisses ainsi réalisée se maintient indéfiniment homogène. La stabilité n'est détruite ni par la température de stérilisation, ni par un séjour prolongé dans un récipient.

Au point de vue fabrication, mêmes précautions que pour le lait condensé sucré, même plus rigoureuses. Contrôle soigneux de l'acidité pour éviter la coagulation de la caséine. Concentration par ébullition dans le vide à 45° ; la chaleur est fournie par des serpentins de cuivre parcourus par de la vapeur, puis homogénéisation : le lait est chassé par une pompe à travers une filière, constituée par des tubes de très petits diamètres ; les globules gras liquéfiés se subdivisent en gouttelettes très fines. Ensuite, mise en boîte et stérilisation par une température entre 93 et 115° dans un autoclave. Le lait condensé non sucré est un lait « chauffé », présenté comme exempt de tout germe pathogène et qui peut être considéré comme stérile. La destruction des substances bactéricides par le chauffage n'aurait aucune importance.

Lait en poudre demi-écrémé sucré

Appert et Malbec sont au début de la préparation du lait sec. Le point délicat était de rendre la dissolution en poudre rapide, ce qui ne peut être obtenu que si l'évaporation est elle-même très rapide et ne se fait pas sous une température trop considérable. La réalisation des appareils évaporateurs satisfaisant à ces deux dernières conditions, est récente. Après les soins nécessaires à la récolte et le contrôle à l'usine, on a deux procédés industriels.

— Dessiccation sur des cylindres chauffés, couche de lait mince à la surface d'un cylindre qui tourne, un couteau disposé parallèlement à la génératrice détache la couche de lait après dessiccation. Le tout en quelques secondes, sous une température variable. Dans le vide 38° ou quelques degrés de plus, c'est le cas de nos laits analysés. A l'air libre, 140°.

— Dessiccation du lait pulvérisé sous une forme d'un brouillard de fines gouttelettes. Le lait pulvérisé en gouttelettes est projeté dans un courant d'air sec à une température de 65°.

Dans les deux procédés, le lait sec est versé dans des boîtes soudées. Les détails de cette fabrication sont bien décrits par Porcher. Sauf dans le cas où l'évaporation a lieu à l'air libre, ces températures sont insuffisantes pour détruire la flore pathogène. Il faut donc un contrôle très sévère des laits de ramassage.

Ce lait est présenté comme pouvant se conserver, sans altération, pendant quelques mois. Le vieillissement lui fait subir des modifications lentes ; il n'est pas donné comme un lait aseptique, mais comme un bon lait que l'on doit reconstituer peu de temps avant l'utilisation.

Lait en poudre non sucré acidifié

C'est un lait fabriqué suivant les indications de Marriott, obtenu en desséchant un lait frais rigoureusement contrôlé et en y ajoutant 0,5 % d'acide lactique officinal.

Il est donné comme un lait pur bactériologiquement. Conservation assurée pendant des mois, boîtes intactes. Le lait reconstitué peut se conserver quelques heures.

Nous verrons ensuite que les résultats annoncés pour ces préparations s'accordent avec notre expérimentation.

CHAPITRE IV

Principaux procédés de recherches pour apprécier la teneur bactérienne d'un lait

Ils sont physiques, bio-chimiques et bactériologiques.

METHODES PHYSIQUES

Nous étudierons principalement la filtration, c'est une méthode facile, à la portée de tout le monde et qui peut être appréciée par tous.

C'est ainsi qu'aux Etats-Unis, la méthode étant reconnue pour le contrôle officiel, on envoie le double ou la moitié de l'agent de filtration aux laitiers ou aux commerçants en leur indiquant la façon dont le résultat a été obtenu. Ce dernier a donc la preuve en main de la classe de son lait.

Voici le procédé :

« Il consiste à filtrer une certaine quantité de lait, un demi-litre généralement, sur une rondelle d'ouate de 16 à 18 millimètres de diamètre et à examiner ensuite l'importance des impuretés retenues » (A. Névot). Il est bien évident que l'on peut filtrer aussi avec du papier, en faisant passer une quantité moindre de liquide.

Nous nous sommes proposés de filtrer ainsi 250 cc de laits de diverses préparations et de comparer les résultats avec le résidu de la filtration d'une même quantité de lait de vache.

Le deuxième procédé de sédimentation est l'essai à l'alcool. Recherche de dépôt d'un sédiment lorsqu'on ajoute à 4 cc de lait des quantités d'alcool croissantes, 1, 2, 3, puis 4 cc à 70°. Appré-

ciation du résultat : le lait est considéré comme impur si le sédiment est obtenu avec moins de 4 cc d'alcool. Valeur relative lorsque les laits ont déjà été filtrés ou chauffés.

Notre expérimentation se limitera à la filtration.

METHODES BIO-CHIMIQUES

Elles sont nombreuses, basées sur : la catalase ; la réductase ; la lacto-fermentation.

Nous énumérerons ces trois procédés, mais nous n'étudierons en détails que la réductasimétrie.

La catalasimétrie

La catalase est une diastase ayant la propriété de dédoubler l'eau oxygénée en eau et oxygène. Elle est présente en suspension dans le lait, dans la crème (Monvoisin).

A un lait pauvre en polynucléaires correspond un degré catalasimétrique bas ; au contraire, si les polynucléaires sont nombreux, le degré catalasimétrique est élevé. Les lymphocytes, eux, ne produisent peu ou pas de catalase (D^r Vétérinaire Bourgeois). Et, de même, les bacilles lactiques ne déterminent que peu de dégagement d'oxygène. Donc, suivant le degré catalasimétrique, on pourra juger de la richesse en polynucléaires et partant de la richesse microbienne.

Toutefois, M. Fouassier fait remarquer dans « Décomposition de l'eau oxygénée ajoutée aux laits pasteurisés, *Le Lait*, 1921 », que le bacillus subtilis est capable d'élever fortement la catalasimétrie, cette méthode sera un témoin de la souillure bactérienne, mais non un témoin du danger d'un lait, le bacillus subtilis étant un germe inoffensif.

TECHNIQUES.

1^o Pour mesurer l'indice catalasimétrique, nous avons utilisé un godet de verre de 8 centimètres de hauteur, de 3 centimètres de diamètre, portant des traits de jauge à 15 cc, 20 cc, 30 cc.

On verse dans ce récipient 15 cc de lait à examiner. On y

ajoute 5 cc d'une solution de perhydrol Merck de Darmstadt au 73 gr. et le dégagement gazeux se produisant aussitôt, on bouche rapidement le récipient avec un bouchon de caoutchouc porteur d'un tube de dégagement effilé à son extrémité supérieure. Comme il importe que la quantité d'air existant entre le niveau supérieur du mélange (eau oxygénée plus lait) et le bouchon soit toujours la même, nous avons constamment fait affleurer la base de ce bouchon au trait de jauge 30 cc de notre godet. Le tout, maintenu par un moyen de fixation variable avec les appareils, est plongé dans un bain-marie à 25°.

Sur le tube de dégagement vient s'adapter une éprouvette remplie d'eau graduée en centimètres cubes, divisés en dixièmes. Le dégagement d'oxygène se produit dans cette éprouvette dont la base ne vient pas au contact du bouchon. On lit le volume de gaz dégagé en 2 heures et on a le degré de catalase.

2° Dans un catalasimètre ou un uréomètre, 5 cc d'eau oxygénée ordinaire et 10 cc de lait sont mélangés. Pour qu'il n'y ait pas d'erreur, il faut agiter vigoureusement, car la crème, en montant, entraîne les bactéries. Lecture après 10 minutes de contact. « Tout lait dégageant 1 cc 5 d'oxygène doit être considéré comme à la limite d'acceptation pour la puériculture. Pour l'alimentation de l'homme, un lait dégageant 4 cc doit être considéré comme mal conservé et en voie d'altération ».

Cette méthode a un avantage sur la première. Résultats en 10 minutes.

INCONVÉNIENTS DE LA CATALASIMÉTRIE.

Il paraît prouvé que la quantité d'oxygène dégagée ne varie pas parallèlement au degré d'altération du lait. Après une augmentation régulière, il y a une diminution sensible, au moment où le lait est suffisamment altéré, pour être coagulé par la chaleur. De nombreux auteurs accordent une valeur plus grande à la réductasimétrie.

D'une façon générale, on peut rechercher les oxydases par la réaction de Dupouy (2 cc de lait, plus 2 cc d'eau gaïacolée, plus 2 gouttes d'eau oxygénée). Le mélange prend une couleur saumon, si les oxydases sont présentes. Cette réaction est toujours négative avec des laits chauffés à plus de 75°.

La réductasimétrie

Diverses techniques ont été proposées, elles ne diffèrent que par quelques points de détails.

On se propose toujours d'apprécier le degré d'altération d'un lait par le temps nécessaire à la décoloration sous une température déterminée à 40° environ, d'un lait mélangé à du bleu de méthylène en solution aqueuse ou alcoolique. On peut adjoindre un mélange colorant fixe, la fuchsine Rubine, par exemple.

1° Solution à 1 p. 4.000 de bleu de méthylène, solution à 1 p. 4.000 de fuchsine.

Dans un tube à essai : 20 cc du lait à examiner, 3 gouttes de la solution de fuchsine, 5 gouttes de la solution d'eau. On mélange. Coloration totale gris cendré. Le tube étant bouché, on le met dans un bain-marie à une température de 38/40°.

Au bout d'un certain temps, variable avec la flore bactérienne, le lait du gris cendré passe au lilas, puis au rose franc.

2° On opère suivant la formule de Monvoisin.

Dans un tube à essai, 6 gouttes de solution à 0,02 % de bleu de méthylène et 10 cc de lait, mis à l'étuve à 37°. Les résultats sont appréciés d'une manière à peu près uniforme :

Décoloration en moins d'une heure	= lait très mauvais ;
» de 3 heures	= lait mauvais ;
» plus de 5 heures	= bon lait.

(4 h. 30 en été et 5 heures en hiver, température extérieure basse, suivant les délais prévus dans les standards).

D'où vient le pouvoir réducteur ? Et l'épreuve de la réductasimétrie est-elle suffisante pour la mesure de la teneur bactérienne d'un lait ?

Il faut tout d'abord savoir reconnaître s'il n'y a pas de formaldéhyde ajoutée dans un but de conservation. La présence de formaldéhyde dans un lait abrégant la durée de réduction du bleu de méthylène, surtout si l'épreuve est faite peu de temps après l'addition de formaldéhyde.

En outre, quels sont les éléments qui peuvent modifier la durée de réduction du lait normal non écrémé (précisons ce point, car l'élimination de la crème amène en même temps l'élimination de

substances réductrices et des enzymes nécessaires pour que les propriétés réductrices subsistent).

L'ébullition et la pasteurisation retardent la réaction, de même l'exposition à l'action de l'oxygène, les longueurs d'onde du spectre la catalysent. Le rôle des bactéries n'est pas nié et peu important pour certains, d'autres en donnent une interprétation mathématique, formule donnant la relation entre le nombre initial des cellules bactériennes et le temps de décoloration du bleu de méthylène.

« Les bactéries ont été en phase logarithmique de reproduction. Chaque cellule a été capable d'activer une même quantité d'hydrogène dans la même unité de temps. Le bleu de méthylène additionné au lait a joué le même rôle que l'oxygène qui est dissout ».

Le pouvoir réducteur serait dû aussi aux graisses saturées en présence de lumière.

Les acides aminés tels que cystéine, glutathion, activent la réduction du bleu de méthylène, mais leur absence dans le lait indique qu'ils ne jouent aucun rôle dans la réduction normale du bleu de méthylène.

Les discussions sont nombreuses et il se dégage ceci : c'est une épreuve pratique, elle aura toute sa valeur avec le contrôle par les méthodes de numération bactérienne sur plaques ou de colonies.

La lacto-fermentation

Méthode de Kufferath. — On met dans un tube à essai 20 cc de lait à l'étuve à 37°. On note :

Le temps de coagulation :

bon lait = après 48 heures ;
lait moyen = après 24 heures ;
mauvais lait = 6/9 heures.

L'aspect du caillot :

bon lait = homogène, gélatineux ;
lait moyen = périphérie irrégulière ;
mauvais lait = caillot déchiqueté (bacillus lactis aérogènes ou subtilis).

Son odeur :

fermentation lactique, butyrique, éthérée ou fécaloïde.

La réaction terminale :

est acide ou alcaline.

Cette méthode ne peut pas donner de bons résultats avec nos laits industriels.

METHODES BACTERIOLOGIQUES

On apprécie le nombre de bactéries et certaines méthodes permettent de préciser leur valeur pathogène.

Numération des bactéries

1° EXAMEN DIRECT.

Ces méthodes sont exposées dans la thèse de A. Névot (Paris, 1930).

a) 5 cc de lait avec 2 cc 5 d'acide acétique glacial ; un colorant peut aider à la visibilité des germes, méthode dite de numération sur plaque ;

b) Méthode de Breed : 0 cc 01 de lait sur une lame étalé en couche uniforme sur 1 centimètre carré. Séchage à l'abri de la poussière et dégraissage dans du xylol. La lame est séchée à nouveau, plongée dans de l'alcool à 90° pendant 2 minutes avec une solution de bleu de méthylène. Méthode officielle aux Etats-Unis ;

c) Dans la technique de Skar, on colore le lait avant l'étalement (5 cc de lait, plus 0 cc 18 de bleu de thymol, plus 0 cc 02 de potasse caustique à 30°). On étale 1/50 de cc. On utilise un oculaire spécial qui permet de numérer les germes et d'en rapporter le nombre à 1 cc.

2° CULTURES.

a) *Sur la lame porte-objet.* — Procédé de Frost, modifié dans sa technique par Van Oiten et Clarenburg, de l'Ecole Vétérinaire d'Utrecht.

Voyons d'abord le premier procédé, celui de Frost. Sur une lame porte-objet sont tracés deux carrés de 2 cc de côté ; sur chacun d'eux on met 0 cc 05 du lait à examiner et une égale quantité de gélose fondue. Le mélange lait et gélose est facilité, car on laisse la lame au-dessus d'un bain-marie aux environs de 45°. Ensuite, on pose la lame horizontalement, à l'abri de l'air, le mélange se solidifie. Mise à l'étuve à 37° pendant 10 à 12 heures. Puis dessiccation par la chaleur, 1 à 2 minutes à 90°. Bain dans solution alcoolique d'acide acétique. Coloration au bleu de thionine. On numère les colonies en examinant plusieurs champs au microscope et en faisant une moyenne.

Dans sa thèse de Montpellier 1928, le Docteur L. Placidi combine les deux méthodes, celle de Breed et celle de Frost.

« Lame spéciale portant gravés deux repères de 2 centimètres sur 2 centimètres 5, et intérieurement de petits carrés d'un millimètre de côté. L'examen est rendu très simple et surtout rapide ; les divisions intérieures apparaissent très nettement sur la coloration. Un des rectangles de la lame reçoit 0 cc 05 de lait pour l'examen direct, et l'autre 0 cc 05 de lait plus 0 cc 05 du milieu de culture. Le milieu utilisé est le suivant :

Gélose	1,5 %
Extrait de bœuf	0,3 %
Peptone	0,5 %
Eau distillée	0,5 %
pH entre 6,2 et 7.	

L'échantillon est agité dans le tube à essai stérile et bouché. On en prélève une petite partie à l'aide d'une pipette en verre graduée en vingtième de cc et on en laisse tomber 0 cc 05, soit une division. A l'aide d'une spatule stérile, on étend le liquide sur tout le carré. Après dessiccation, la lame est dégraissée dans le xylol, égouttée et séchée, plongée dans de l'alcool à 90° et colorée. On stérilise à nouveau à l'alcool et à la flamme la surface du second rectangle. La lame est alors placée sur un bain-marie à 45°. On prélève une petite quantité du même échantillon qui a servi à la préparation du premier rectangle. On en laisse tomber 0 cc 05 sur le carré et autant de gélose fondue. On laisse refroidir horizontalement sur le porte-lame dans une chambre humide. Le tout est porté à l'étuve à 37° pendant 12 heures. Les lames sorties de l'étuve sont séchées rapidement sur une platine chauffante pour

éviter les craquelures que provoque la dessiccation lente et elles sont colorées. Le colorant est le suivant :

Bleu de thionine	1 gr.
Phénol cristallisé	2 gr. 5
Eau distillée	400 gr.
Acide acétique glacial	20 gr.

On immerge la préparation deux minutes dans ce liquide. On lave et on sèche.

On examine le premier carré à l'objectif à immersion, le second directement ».

Dans le premier carré, le nombre de bactéries est toujours plus grand, car on peut compter les microbes vivants ou morts, tandis que dans le deuxième, on compte les germes vivants ayant poussé sur le milieu employé.

Voici maintenant la technique détaillée du test tel que la décrit Van Oijen :

1° Agiter l'échantillon ;

2° Avec une pince, retirer la lame du flacon d'alcool, la passer à travers la flamme, la placer sur la table chaude, le côté gravé en dessus, toujours des rectangle de 2 cc/2 cc 5. ;

3° Retirer un dixième de cc de lait de l'échantillon. Elever et abaisser le niveau du liquide dans la pipette six fois, puis enlever le lait à l'extérieur de la pipette, en faisant pénétrer la pointe à travers un papier filtre stérile tendu sur un bocal de Kilner. Utiliser une pipette pour chaque échantillon ;

4° Attendre 60 secondes entre le flambage de la lame et le moment où le lait sera versé sur elle. Puis verser 1/20 de cc de lait sur chaque rectangle ;

5° Ajouter 1/20 de cc d'agar à chaque rectangle ;

6° Passer la spatule trois fois à travers la flamme ; attendre 20 secondes, puis mélanger le lait et l'agar et les étendre en couches régulières sur chaque rectangle. Ne pas passer la spatule à la flamme, en passant d'un rectangle à un autre ;

7° Poser la lame sur une surface préalablement nivelée et couvrir pour protéger de la poussière. Après 10 minutes de repos, placer à l'étuve 24 heures à 28°.

Cette méthode serait préférable pour le lait pasteurisé, et par-tant, pour le lait de conserve. D'après certains auteurs, la méthode Van Oijen est plus précise que la numération directe sur plaque.

b) *Sur boîte de Pétri.* — Nous allons envisager : le milieu de culture employé ; la technique.

Tous les milieux à la gélose ont été proposés.

Gélose au petit lait dilué et peptoné ;

Agar standard au lactose ;

Agar au lait écrémé, glucose, trypton dans les proportions sui-vantes :

Tryptone	0,5
Glucose	0,1
Agar	1,5
Lait écrémé	0,5
Eau distillée	

Pour les bons laits, il serait inutile et même nuisible, d'ajouter un hydrate de carbone fermenticide. La température optimum a été de même envisagée et discutée. Elle oscille entre 30 et 37°, 37° paraissant convenir pour les milieux les plus simples, gélose peptonée.

Quant à la technique, Burri a proposé une numération bacté-rienne par stries à l'aide d'une anse de platine. Détails particuliers : soins à donner à l'anse de platine (l'anse doit être rincée soigneuse-ment à l'eau avant d'être portée dans la flamme pour la stériliser ; ne doit pas être flambée d'une manière exagérée ; ne doit pas être manipulée brusquement ; il faut nettoyer l'anse en la trempant de temps en temps dans l'acide nitrique).

Milieu de culture (la gélose doit être suffisamment ferme, sa surface doit être sèche au moment de l'ensemencement).

Liquide à semencer (le lait doit être dilué).

Ensemencement (conseillé par Burri sur des tubes et non sur des boîtes).

Culture, 48 heures à 30°. Dénombrement des colonies, si ces conditions sont observées, bonne répartition.

M^{lle} Irène Lipska propose d'ensemencer avec une pipette gra-duée 1/10 de cc de lait ou 1 cc d'une solution au 1/10 sur 10 cc de gélose.

Prendre 10 cc de gélose. La fondre, la refroidir à 45° et la verser dans une boîte de Pétri. Il faut tout préparer à l'avance, afin d'éviter des souillures par les microbes de l'air. Mélanger le lait très soigneusement avec le milieu et faire attention que la couche de gélose soit partout de la même épaisseur. Laisser les boîtes de Pétri à l'étuve à 37° pendant 48 heures. Après ce délai, compter à la loupe (grossissement 6) les colonies en posant les boîtes de Pétri renversées sur du papier non glacé. Si on ne peut pas faire la numération sur boîte de Pétri au bout de 48 heures, il faut les garder au froid ou tuer les micro-organismes à la formaline.

C'est cette méthode que nous avons employée.

Identification des bactéries

Ce n'est plus seulement le nombre total de germes qu'il importe de connaître, mais plutôt les espèces nuisibles présentes dans le lait, dont les plus importantes sont les représentants du groupe coli-aérogènes.

Un lait reconnu bon pour les enfants ne doit pas suivant certains, contenir plus de 30 coli par cc. C'est donc par l'identification des colis que nous commencerons l'énumération de ce sous-chapitre.

On recherche souvent la formation de gaz dans un milieu constitué par du tanin, de la peptone, du lactose et du violet de gentiane. On porte à ébullition un litre d'eau distillée en opérant au bain-marie. On ajoute 50 grammes d'écorce de noix de galle et 10 grammes de peptone. On agite. On maintient la cuisson une heure, puis on ajoute 10 grammes de lactose. Ensuite, le bouillon est amené à la neutralité à la phénolphthaléine par addition de lessive de soude. On filtre et on ajoute le colorant : 4 cc d'une solution à 1 % de violet de gentiane. On remplit les tubes ; autoclave 15 minutes sous une atmosphère. Pour déceler la formation des gaz, on emploie le tube de Durham, petite éprouvette renversée et plongée dans du bouillon. Le lait est dilué. On met une dilution de 1/10 et 1/100 de cc dans les tubes, incubation à 37° pendant 48 heures et on regarde quel est le degré de dilution auquel on observe encore un dégagement de gaz.

Vincent emploie le procédé suivant :

9 cc d'eau peptonée à 1 % et phéniquée à 5 %, on met 1 cc de lait. Etuve à 41° 5 pendant 24 heures (élimination des germes sen-

sibles au phéniquage et à la température de 41° 5). Ensuite, on prend une goutte de cette solution que l'on met dans 10 cc d'eau physiologique et c'est ce dernier mélange dont on se sert pour commencer de la gélose lactosée tournesolée en boîte de Pétri. Cette dernière culture est mise à l'étuve 24 heures à 37°.

L'observation des colonies : odeur, virage de la gélose lactosée tournesolée, permet de poursuivre les examens. S'il y a existence d'un bacille mobile, Gram négatif, virant la gélose rouge neutre, ne transformant pas la gélose au plomb et donnant de l'indol, on peut conclure à la présence de coli-bacilles (A. Névot).

L'indol peut être mis en évidence par d'autres réactifs :

Réaction d'Erlich Kovacs. — On se sert d'une solution alcoolique à 4 % de paradiméthylaminobenzaldéide (5 gr. dans 75 gr. d'alcool amylique). Technique : ensemencement sur bouillon 4 cc environ, quelques gouttes de solution de soude et de l'éther sulfurique en quantité égale à celle du bouillon. On ferme le tube et on agite après avoir ajouté 2 cc de réactif, puis on introduit 2 cc d'acide chlorhydrique pur avec une pipette. S'il y a une teinte rouge, indol, donc présence de coli-bacilles. Sinon, la réaction est négative.

D'autres procédés permettent la colimétrie.

Dans une série de tubes de bouillon additionnée de dulcité et de rouge de phénol, sont ensemencées des dilutions au 1/100, 1/1000 et 1/10.000, s'il s'agit de lait cru, des dilutions moins poussées, s'il s'agit de laits industriels. En présence de dulcité, le virage du rouge du phénol ne se réalise que si le coli-bacille est présent dans le lait ensemencé.

Ce milieu à la dulcité, dit de Zapatero ou Z, permet aussi la différenciation du vrai bacille coli du bacille aérogène ; virage au jaune lorsque se développe le coli-bacille de type fécal ; pas de changement lorsqu'il s'agit du bacille aérogène.

Vassilef propose aussi la numération par le virage du rouge neutre en employant des dilutions connues des laits.

L'étude des groupes de coli-bacilles a de même été faite par M^{lle} I. Lipska, dans une étude rapportant les expériences bio-chimiques de différenciation à la clinique. M^{lle} I. Lipska arrive aux conclusions suivantes : il y a des coli-bacilles du lait d'hiver (pouvoir fermentatif des souches plus prononcé) et des coli-bacilles du lait d'été. Les coli-bacilles des nourrissons malades (dyspepsie) ont

des propriétés bio-chimiques intermédiaires entre le bactérium coli commun et le bactérium lactis aérogène ; il se rapproche davantage du coli-bacille des laits d'été.

Autres bactéries pathogènes : quelle valeur attacherons-nous à la colimétrie pour apprécier la contamination possible par le bacille d'Eberth ? Valeur moins grande que pour l'eau, car le coli-bacille peut provenir des excréments de la vache et le lait peut n'avoir subi aucune contamination d'origine hydrique ou humaine.

Bacilles de Koch. — Examen direct du culot de centrifugation. Cultures sur milieu de Lowenstein. Inoculations aux cobayes (après centrifugation de 40 cc de lait, le culot et la crème sont mélangés et on injecte 1 cc sous la peau de la face interne de la cuisse d'un cobaye. Si présence de bacilles de Koch, abcès, ulcération et mort de l'animal en six semaines à trois mois.

Streptocoques : centrifugation et coloration du culot par le bleu phéniqué ou le Gram. Pas de différence de races.

Anaérobies : recherche importante ; les anaérobies étant considérés comme responsables des diarrhées d'été.

On prépare tout d'abord une série de tubes stériles contenant de la paraffine qui sont obtenus en plaçant environ 1 cm³ de paraffine fondue dans une éprouvette ordinaire, en munissant l'éprouvette d'un tampon d'ouate et en plaçant le tout, soit pendant une demi-heure dans un autoclave sous une atmosphère, soit pendant une heure dans une étuve à air chaud à 180°. On prélève sur chaque échantillon de lait examiné, agité avec soin, quatre fois 5 cm³ en utilisant une pipette stérile et sans toucher la paroi du verre. En effet, une goutte de lait séchée sur la paroi n'est pas soumise à l'action de la chaleur humide et elle peut conduire à des résultats faux par suite d'une infection ultérieure dans l'incubateur. Ces cinq échantillons sont donc versés dans cinq éprouvettes préparées de la façon précédente. Les tubes sont bouchés à nouveau avec des tampons d'ouate et chauffés pendant 15 minutes dans un courant de vapeur ou dans un bain-marie à au moins 85°. La paraffine fond à nouveau, elle monte sur le lait où elle se refroidit après la fin du chauffage en constituant une fermeture anaérobie au-dessus du lait. Toutes les formes végétatives de bactéries sont tuées de cette façon dans le lait, seules les spores subsistent.

Les tubes sont incubés pendant une durée de trois jours à 37° dans un thermostat. Lorsque les producteurs de spores anaérobies

sont présents dans le lait, on constate au bout de ces trois jours que le bouchon de paraffine se soulève dans le tube sous l'influence de la pression du gaz. Si même le débouchement gazeux est particulièrement important, le bouchon de paraffine et le tampon d'ouate peuvent être expulsés du tube. Si sur les cinq essais effectués dans ces conditions, deux montrent la formation de gaz, cela constitue une épreuve de la pollution abondante du lait par les producteurs de germes anaérobies.

Tous ces derniers procédés ont un intérêt modéré pour l'examen des laits de conserve, chauffés. Par contre, certaines particularités des techniques nécessaires à la coloration de nos microbes sont utiles à connaître, afin de faire de bons diagnostics microscopiques.

En effet, si certains ferments lactiques sont soumis à une épreuve de chauffage énergique dans le lait, ils acquièrent une résistance anormale à la coloration, suivant les techniques usuelles de la bactériologie (bleu de méthylène aqueux, violet de gentiane, bleu de Unna-Gram). Seuls les colorants forts comme la fuchsine phéniquée peuvent agir.

Ces colorations ne peuvent être obtenues qu'après un contact de 10 à 12 heures.

La colorabilité des ces mêmes microbes redevient normale si les préparations sont traitées auparavant par l'acide acétique dilué.

Avec ces différentes techniques on peut donc identifier les germes contenus dans n'importe quel lait.

De tous les Congrès d'hygiène sur le lait, il ressort qu'il faut toujours faire au moins :

- l'épreuve de la catalasimétrie ;
- l'épreuve de la réductasimétrie ;
- la numération des bactéries en colonies ;
- déceler la présence de coli-bacilles.

Au point de vue pratique, ces résultats sont les meilleurs.

A ces divers examens, il ne faut jamais oublier d'ajouter l'examen physique simple général : aspect, goût, odeur (Concours de l'Alimentation du Reich 1935, examen général 14 points, examen bactériologique 6 points) quand on examine un lait cru. Nous nous empressons de dire que, pour les laits de conserve, à moins de se trouver en présence de conserves avariées, l'examen bactériologique aura une importance relative plus grande.

Résultats - Leur interprétation

Pour diluer nos laits, nous avons employé à peu près les chiffres de la pratique courante.

Lait condensé sucré dilution au $1/5$;

Lait condensé non sucré dilution au $1/2$;

Lait sec demi-écrémé 15 gr. pour 100 gr. d'eau ;

Lait acidifié non sucré 10 gr. pour 100 gr. d'eau.

Nous avons travaillé sur matériel stérile et employé de l'eau distillée stérile. S'il y a eu souillure au cours de nos manipulations, par les microbes de l'air, il faut tout de même admettre que nous étions dans des conditions meilleures que celles que l'on rencontre journellement. Par conséquent, les résultats que nous donnons sont meilleurs que ceux que l'on obtiendrait si l'on ensemait des dilutions de laits après une préparation ordinaire.

FILTRATION.

Nous ne séparons pas les résultats. Les différences physico-chimiques des laits que nous avons analysés sont responsables des dépôts différents que nous avons pu observer. Nous pouvons affirmer que tous nos laits de conserve étaient des laits propres, comparativement aux laits de vache témoins employés et qui, cependant, sont de bons laits.

RÉDUCTASE.

Les épreuves ont été faites comme nous l'avons indiqué suivant la formule de Monvoisin. Les laits de vache frais, condensés sucrés, secs demi-écrémés sucrés sec acidifiés non sucrés, ont réduit le bleu de méthylène. Les tubes sortis de l'étuve et exposés à la lumière, retrouvent leur coloration bleue et la perdent de nouveau après un deuxième séjour à l'étuve. Le lait condensé non sucré ne réduit pas le bleu de méthylène.

ENSEMENCEMENT SUR GELOSE

Suivant la technique de M^{lle} Irène Lipska, 1/10 de cc sur environ 10 cc de gélose en boîte de Pétri. Après 48 heures d'étuve, les colonies ont été comptées à la loupe grossissement 6. Nous disons immédiatement la difficulté que nous avons trouvée pour numérer les colonies de certains échantillons, lorsque leur aspect était confluent, nous nous sommes basé sur la surface. Les colonies étant toujours comptées par nous, s'il y a une erreur subjective, elle ne peut avoir beaucoup d'importance, puisque la seule relative des résultats entre eux est la partie la plus intéressante.

Lorsque nous avons plusieurs échantillons, nous avons fait des moyennes afin de dresser le tableau suivant :

LAITS :	LAIT CONDENSÉ SUCRÉ	LAIT CONDENSÉ NON SUCRÉ	LAIT SEC DEMI-ÉCRÉMÉ	LAIT SEC ACIDIFIÉ NON SUCRÉ	LAIT DE VACHE FRAIS
EPREUVE DE LA RÉDUCTASE RÉDUCTION	entre 5 et 16 h.	nulle	entre 20 et 24 h	en 4 jours	vers 5 h.
Ensemencement sur gélose : nombre de colonies					
<i>A l'ouverture de la boîte</i>	200	100	775	400	8.000
<i>Dilutions conservées 24 h.</i>					
à la glacière	1.400	720	2.100	pratiqu. stérile	
à l'étuve à 37°	9.600	3.900	2.400	600	
à la température du labo- ratoire ; en tube stérile	3.050	700	1.950	pratiqu. stérile	
dans récipient ordin...			3.000	pratiqu. stérile	
<i>Après 24 h. d'ouverture de la boîte :</i>					
Dilution récente	1.500	800	1.100	stérile	
<i>Après 36 h. d'ouverture de la boîte :</i>					
Dilution récente			1.750		

IDENTIFICATION DES GERMES

Au cours de cette étude, nous avons dit à plusieurs reprises qu'il fallait, en outre de la numération, identifier certains germes. Le coli-bacille a été recherché plus particulièrement, nous contentant de certains examens lorsqu'il était nettement absent, essayant de le différencier lorsque nous avions un doute.

Comme procédé de culture, nous avons utilisé la méthode de Vincent, à l'eau peptonée phéniquée, séjour à l'étuve de 24 h. sous 41°5, dans les premiers examens.

Vu le peu de germes obtenus, nous nous sommes contenté ensuite d'ensemencer sur eau peptonée phéniquée à 37°. Repiquage sur gélose lactosée tournesolée et examen des cultures. Pour les laits condensés, nous avons fait en même temps une numération des colonies sur cette gélose coulée en boîte de Pétri. La quantité de lait employée était de 1/10 de cc pour que le liquide ensemencé soit la 1/100^e partie du milieu de culture (quantité maximum pour qu'il y ait dégagement de l'indol en présence de lactose). Coloration simple lorsque nous voulions constater la présence seule de germes. Coloration de Gram pour la recherche du coli-bacille. Ces colorations ont été nettes, sauf quelques ferments lactiques dont les limites étaient un peu floues. Généralement, présence de bacilles lactiques et de ferments lactiques (*streptococcus thermophilus*, *thermobacterium lactis*).

Nous allons mettre nos résultats en deux fois, centrés sur la recherche du coli-bacille.

Lait condensé

Ensemencement sur eau peptonée phéniquée :

Lait de vache témoin : abondant dépôt blanc, floconneux.

Lait condensé sucré : très léger dépôt blanc en surface.

Lait condensé non sucré : pas de dépôt, liquide blanchâtre.

Ensemencement sur eau peptonée simple :

Lait condensé sucré, lait condensé non sucré : semblables, liquide blanchâtre.

Repiquage sur gélose lactosée tournesolée (1 goutte de la culture primitive dans 10 cc d'eau physiologique).

	DE LA CULTURE EN EAU PEPTONÉE PHÉNIQUÉE	DE LA CULTURE EN EAU PEPTONÉE SIMPLE
Lait de vache	500 colonies — léger virage rouge.	Virage rouge — 2.000 colonies — Odeur caractéristique.
Lait condensé sucré	200 colonies — pas de virage.	Pas de virage — Aspect nuageux.
Lait condensé non sucré	Rares colonies — pas de virage.	Pas de colonies visibles.

Pour chaque échantillon de lait, il a été procédé à la réaction d'Erlich Kovacs. Il n'y avait pas d'indol. Pas de bacilles Gram négatif à l'examen des cultures des laits de conserve.

CONCLUSIONS.

Pas d'odeur, pas de bacille Gram négatif, pas d'indol à la réaction d'Erlich Kovacs : pas de coli-bacilles.

Lait en poudre

Ensemencement sur eau peptonée phéniquée.

Lait demi-écrémé sucré. — Dépôt blanc. Bacille Gram négatif dans un échantillon. Repiquage sur gélose lactosée tournesolée : virage.

Bacille qui ne noircit pas le plomb, dégagement gazeux. Pas d'indol. Bacille du groupe coli non indogène.

Sur d'autres échantillons, pas de bacille Gram négatif. Pas de coli-bacille.

Lait acidifié non sucré. — Peu de dépôt blanc. Pas de bacille Gram négatif. Repiquage sur bouillon, sur gélose. Culture difficile à mettre en évidence.

INTERPRÉTATION.

Groupons ces divers résultats.

A l'ouverture de la boîte, nous constatons que les laits condensés sont les plus pauvres en germes. Dans l'ordre : lait condensé

non sucré, lait condensé sucré, lait acidifié non sucré, lait sec demi-écrémé sucré.

Dans chaque catégorie, correspondance aux données classiques, les laits non sucrés, chauffés à de hautes températures, doivent être les plus purs, bactériologiquement.

Voyons tous les cas envisagés : entre l'analyse immédiate, dès l'ouverture de la boîte et l'analyse d'une nouvelle dilution 24 h. après, nous constatons des différences. Voici l'ordre en allant des plus petites aux plus grandes.

Lait en poudre acidifié non sucré : il y a diminution, la première dilution a été faite sur une quantité plus grande, par conséquent, il a fallu battre à l'air libre plus longtemps, les dangers de souillure augmentaient.

Lait en poudre demi-écrémé sucré : bonne conservation trois jours après.

Lait condensé sucré : semblable, à peu de chose près, au lait non sucré.

Lait condensé non sucré : Ces deux derniers ont une légère différence qui s'accroîtrait rapidement comme le montre l'aspect macroscopique des deux laits conservés trois semaines après.

Lait condensé sucré, cristallisation en surface. Lait condensé non sucré, sec et présence de moisissures.

Une analyse d'un lait condensé sucré, vieux de cinq ans, nous montre aussi sa conservation à distance. Ensemencement sur gélose : un millier de colonies environ ; pas de réduction du bleu de méthylène.

Voyons maintenant quels sont les divers résultats des dilutions ; nous énumérerons toujours dans le même sens.

A la glacière :

- lait en poudre acidifié non sucré ;
- lait en poudre demi-écrémé sucré ;
- lait condensé sucré ;
- lait condensé non sucré.

A l'étuve :

- lait en poudre acidifié non sucré ;
- lait en poudre demi-écrémé sucré ;
- lait condensé non sucré ;
- lait condensé sucré.

Dans la salle, en tubes stériles :

- lait en poudre acidifié non sucré ;
- lait en poudre demi-écrémé sucré ;
- lait condensé non sucré ;
- lait condensé sucré.

Dans la conservation en récipient ordinaire :

le lait en poudre sucré s'est révélé meilleur milieu de culture que le lait acidifié.

La classification que nous venons de donner se rapporte aux vitesses de multiplication des germes dans chaque lait.

Nous allons comparer dans deux tableaux différents :

1° Le nombre de germes de chaque lait aux diverses phases de nos manipulations.

2° Les coefficients de multiplication des germes dans le lait. Nous les obtenons en divisant le nombre de germes après 24 heures par le nombre de germes obtenus dès l'ouverture de la boîte.

A L'OUVERTURE DE LA BOITE	APRÈS 24 HEURES	
	LAIT INTACT	LAIT DILUÉ Moyenne des résultats
Lait concentré non sucré .. 100 col.	Lait en poudre acidifié non sucré rien	Lait en poudre acidifié non sucré 200 col.
Lait condensé sucré 200 —	Lait condensé non sucré .. 800 col.	Lait condensé non sucré .. 1770 col.
Lait en poudre non sucré acidifié 400 —	Lait en poudre demi-écrémé sucré 1100 —	Lait demi-écrémé sucré .. 2150 —
Lait en poudre sucré demi-écrémé 775 —	Lait condensé sucré 1500 —	Lait condensé sucré 4680 —

Coefficients de multiplication des germes

LAIT DILUÉ		LAIT INTACT	
Lait en poudre acidifié non sucré	coef. nul	Lait en poudre acidifié non sucré	coef. nul
Lait en poudre demi-écrémé sucré	— 2,7	Lait en poudre demi-écrémé sucré	— 1,4
Lait condensé non sucré ..	— 17,7	Lait condensé sucré	— 7,5
Lait condensé sucré	— 23,4	Lait condensé non sucré ..	— 8

Notre énumération se fait toujours dans le sens croissant, du lait le plus pauvre en germes au plus riche. Du plus petit coefficient au plus grand.

En regardant ces deux tableaux, nous voyons immédiatement qu'à l'ouverture de la boîte les laits concentrés sont les laits les plus pauvres en germes, et, particulièrement, le lait condensé non sucré. Les laits en poudre sont plus riches. Il faut dire cependant que la longue préparation à l'air libre du lait acidifié ne l'avantage pas au point de vue numération totale des germes.

Dans la deuxième partie du premier tableau, nous constatons qu'il est préférable de ne pas diluer à l'avance les laits de conserve, sauf le lait acidifié qui peut se conserver 24 heures.

Si nous regardons un peu plus haut dans les résultats, nous remarquons que les dilutions conservées à la glacière sont, quant au nombre de germes, très voisines des laits correspondants, non dilués, ouverts depuis 24 heures.

Le deuxième tableau nous montre que les laits en poudre se conservent le mieux, surtout le lait acidifié. Les coefficients de multiplication de germes sont plus élevés pour les dilutions.

Pour la qualité des germes, nous avons déjà mentionné que, seulement dans un échantillon de lait en poudre, nous avons trouvé un bacille du groupe coli non indologène.

Maintenant, au delà de 24 heures, 48 heures par exemple, nous donnons une interprétation mathématique des résultats :

Résultats de 24 heures multipliés par son coefficient de multiplication, nous obtenons pour les laits intacts :

Lait en poudre acidifié	pas de résultat, coeff. nul
Lait en poudre demi-écrémé sucré	1.540 colonies pour 1/10 cc
Lait condensé non sucré	6.400 — — —
Lait condensé sucré	11.500 — — —

Ce tableau ne changera que vers le dixième jour pour être définitivement, toujours en partant du lait le plus pauvre :

- lait acidifié non sucré ;
- lait en poudre demi-écrémé sucré ;
- lait condensé sucré ;
- lait condensé non sucré.

Toutes ces classifications nous permettent de conclure d'une façon précise.

Conclusions

Nous avons, au cours de cette étude, fait l'analyse des principaux types de laits de conserve dans un but pratique.

Les laits employés furent : les laits condensés sucrés et non sucrés, les laits en poudre demi-écrémés sucrés et non sucrés acidifiés.

Les analyses ont été pratiquées sur tous ces laits et sur un lait de vache frais pris comme témoin : dès l'ouverture de la boîte et 24 heures après sur ces mêmes laits intacts ou dilués.

Nous avons pu ainsi juger de leur richesse primitive en germes et de leur degré de conservation, boîte ouverte.

Les résultats sont exposés dans le chapitre précédent, nous les résumons dans ces conclusions.

1° Laits condensés

Ces laits sont les plus pauvres en germes à l'ouverture de la boîte.

24 heures après, le lait condensé sucré n'occupe plus la deuxième place, mais la dernière (colonies les plus nombreuses par cc) et le lait condensé non sucré n'occupe que la deuxième, s'étant laissé dépasser par le lait acidifié, devenu le plus pauvre en germes.

48 heures après, les laits condensés sont tous les deux aux derniers rangs. Nous arrêterons là leur limite d'utilisation. Ils ont perdu leur avantage. Les dilutions contiennent le double de germes que le lait intact.

Interprétation pratique : les laits condensés sont de très bons laits à l'ouverture de la boîte. Le lait condensé non sucré offrant le plus de garanties de stérilité. Pour des délais plus grands que ceux envisagés, la plus grande vitesse de multiplication de germes dans le lait non sucré et la présence de sucre dans le lait condensé sucré, font prévoir que ce dernier se conservera le mieux.

Emploi : utilisation de 0 à 48 heures, variable de quelques heures suivant les conditions de conservation. La température aux environs de 0° étant la meilleure.

Si cette utilisation est rapide, préférer le lait condensé non sucré. Éviter les dilutions à l'avance, sauf pour un maximum de 10 heures, si les conditions de conservation sont rigoureusement contrôlées.

2° Laits en poudre

Dès l'ouverture de la boîte, contiennent plus de bactéries que les laits condensés.

24 heures après : le lait acidifié est le plus pauvre en germes, le lait demi-écrémé sucré occupe la troisième place.

48 heures après l'ouverture de la boîte, les laits en poudre sont en tête. Les dilutions se conservent moins bien que les laits intacts, sauf pour le lait acidifié.

Interprétation pratique : les laits en poudre sont de bons laits (nous y avons trouvé exceptionnellement un germe de souillure). Le lait acidifié nous donne des garanties absolues de stérilité.

Emploi : utilisation de 0 à 4 à 5 jours pour le lait en poudre demi-écrémé sucré, plus grande pour le lait acidifié.

Après 48 heures d'ouverture de boîte, toujours préférer les laits en poudre aux laits condensés.

En dilution, ne conserver pour 24 heures que les laits acidifiés, le lait en poudre demi-écrémé correspondant aux laits condensés.

Ces indications doivent se combiner avec les indications cliniques particulièrement pour le lait acidifié. Elles ne sont qu'un complément pratique de réalisation du régime institué théoriquement d'après les besoins alimentaires de l'enfant.

Nous avons assez insisté sur la flore bactérienne possible et le danger microbien des laits crus (danger vérifié par l'analyse de notre lait de vache témoin et les observations cliniques) pour apprécier nos laits de conserve et ne pas les négliger dans les diverses phases de leur préparation, lorsqu'ils sont employés dans l'alimentation artificielle des nourrissons.

LU ET APPROUVÉ :
Le Président de Thèse,
LUCIEN CORNIL

VU ET APPROUVÉ :
Le Doyen,
Lucien CORNIL

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Aix, le 25 Avril 1940.
Le Recteur, GAU

Bibliographie

- BARANSKI (R.) et BOGDANWEG (T.). — Les gastro-entérites non spécifiques du nourrisson. *Bulletin Office International d'Hygiène Publique*, août 1939.
- BARKWOTH (H.). — L'essai Van Oijen. Une nouvelle méthode de préparation pour l'examen du lait de haute qualité. *Milk. Ind.*, tome XVII, n° 10, avril 1937.
- BARTHEL (CH.). — Nouvelle méthode pour différencier, au point de vue biochimique, les groupes de bactéries coli et aérogènes. *Annales de l'Ecole supérieure d'agriculture de Ludé*, volume III, Upsala, 1936.
- BEJAMBES (M.). — La vie microbienne dans le lait. *Journal Médical français*, décembre 1932.
- BESSON (A.), RANQUE (A.) et SENEZ (CH.). — Variations dans la réduction du rouge neutre par les microbes. Utilisation pour le diagnostic, *Société de Biologie*, 26 octobre 1918.
- BERTIN-SANS (H.) et GAUJOUX (E.). — Valeur relative de la catalasimétrie et de la réductasimétrie. *Hygiène de la viande et du lait*.
- BORDAS (F.). — Le lait cru aseptique. *Revue pathologie Comp.*, mars 1935.
- Transmission de la fièvre scarlatine par le lait. *Cahier de Médecine Vétérinaire*, janvier 1938.
- BOWER (C.-S.) et HUCKER, (G.-J.). — Composition des milieux pour l'analyse bactériologique du lait. *Bulletin technique*, n° 228 de la station d'Essais agricoles de l'Etat de New-York, mars 1935.
- BOWES (G.-K.). — Epidémie de dysenterie à bacille du type Sone due à la consommation du lait.
- CAMUS. — Des tests microbiologiques de contamination dans le contrôle rapide du lait. *Thèse Lyon*, 1934.
- CASERIO (E.). — Observations et recherches sur les variations de la charge bactérienne du lait en rapport avec quelques facteurs qui jouent un rôle dans la pratique. *Annales d'Hygiène*, août 1937.

- CONYBEARE (E.-T.) et THORNTON (L.-H.-D.). — Rapport sur une épidémie d'empoisonnements alimentaires due à des Salmonelloses type « Dublin » et transmise par le lait cru. *Reports on pub. Health and medical subjects*, 1938, n° 82.
- CRABTREE et LITTERER. — Epidémie d'empoisonnement par le lait due à un staphylocoque producteur de toxine trouvé dans les mamelles de deux vaches. *American journal of Public. Health*, 1934, tome XXIV.
- DEMETER (K.-J.). — Directives pour l'exécution du contrôle bactériologique du lait. *Le Lait*, février 1936.
- DEMIER (A.). — La stérilisation par ionisation. *Rev. pathol. comp.*, juin 1937.
- DEMIGNEUX (M.). — Organisation de la vente d'un lait pur.
— Etude pour l'application de la loi du 2 juillet 1935. *Thèse Paris*, 1937.
- DEMONT (P.) et DORNER (W.). — La gélose au petit lait peptoné, milieu de choix pour la détermination du nombre de germes contenus dans le lait. *Le Lait*, sept., oct. 1931.
— Recherches sur le procédé Burri de numération bactérienne par stries. *Le Lait*, nov. 1931.
- DETREUX. — Les présentations industrielles du lait. *Jour. Médical français*, décem. 1932.
- DOGLIO. — Lait et tuberculose humaine. *Società piemontese Igiene, bull. Off. Int Hyg. Pub.*, décem. 1933.
- EVERS (C.). — Particularités épidémiologiques de l'épidémie de scarlatine de Pinnebey. *Zentral f. ; im. Med.*, 1938, tome LIX.
- FAY (L.-C.). — La détection de formaldéhyde dans le lait par l'épreuve de la réduction du bleu de méthylène. *Journal of Dairy Science*, mai 1935, n° 5.
- FOURNIER. — Observations du lait en fonction du temps, de la température et des souillures. *Mouv. Sanit.*, mars 1938.
— Essai de sédimentation. Méthodes officielles américaines. *Le Lait*, 1925
- FRANK (Léslie-C.). — Les progrès dans l'assainissement du lait aux Etats-Unis. *Bull. Off. Inter. Hyg. Pub.*, 1936.

- GERVOIS. — Le bacille de type bovin dans la tuberculose humaine. *Thèse* Lille, 1937.
- GIRAUD. — Le lait condensé sucré, son emploi pour l'alimentation des nourrissons. *Archiv. de Méd. gén. et colon.*, 1935, n° 8.
- Alimentation du nourrisson, directives générales. *Arch. de Méd. gén. et colon.*, 1935, n° 9.
- Que faut-il penser des régimes actuellement adoptés pour l'alimentation des enfants au premier âge. *P. M.*, 2 janvier 1937.
- GODLEWSKI (H.). — Le transport du lait. *Jour. Méd. fran.*, décem. 1932
- GUITTONNEAU (M. G.), MOCQUOT (M. G.) et EYRARD (M.). — Contrôle de la flore bactériologique du lait pendant la récolte, la pasteurisation, le transport et la vente. *Mouv. Sanit.*, mars 1938.
- GUITTONNEAU (G.) et M^{lle} BRIGANDO. (J.). — Observations relatives à la coloration des microbes préalablement chauffés dans le lait. *Le Lait*, 1936, n° 156.
- HUBER (J.) — Le lait, aliment des enfants et des malades. *Jour. Méd. fran.*, décem. 1932.
- HEINRICH (J.) — Considérations sur le développement de la consommation du lait. *Thèse* Marseille 1935.
- JACKSON (C.-J.) — Les facteurs qui influent sur la réduction du bleu de méthylène par le lait. *Jour. Of. Dairy. Research.*, 1936, n° 1.
- JOANNON (P.). — Contrôle du lait et mortalité infantile. *Jour. Méd. Fran.*, décem. 1932.
- LASSABLIÈRE (P.). — Le lait condensé, 1920.
- LEBOVITCH (R.). — Emploi de la teinture de gaïac dans le contrôle de la pasteurisation. *Le Lait*, mai 1937.
- LEMAIRE (G.). — Epidémie algéroise de fièvre typhoïde, *R. H.*, octob.-novem. 1938.
- LEPANTO. — Le contenu du lait en colibacilles et autres germes à Trapani (Sicile). *Igiene Modern.*, novem. 1931. *Bull. Off. I. H. P.* 1932, n° 5.
- LEREBoullet. — Prophylaxie des maladies dues au lait. III^e Congrès Internat. de Pédiatrie. Londres, juillet 1933. *Paris Médical*, n° 37. sept. 1933.

- LIPSKA (I.). — Les colibacilles et les bactériophages du lait de consommation en nature, à Varsovie. *II^e Congrès internat. de Microbiologie*, Londres 1936.
- Les colibacilles et les coliphages chez les nourrissons. *Le Lait*, 1936, n° 153.
- MAITLAND - JONES (A.-G.). — Quelques remarques à propos de la gastro-entérite non spécifique du nourrisson. *Off. Inter. Hyg. Pub.*, mars 1939.
- MALCOM (J.-F.) et LEITCH (R.-H.). — La valeur de l'essai de réduction du bleu de méthylène comme moyen d'appréciation de la qualité du lait. *Scottish j. Agr.*, tome XIX, 1936.
- MARFAN. — Traité de l'allaitement et de l'alimentation des enfants du premier âge. Masson, édit. 1930.
- MATHIEU (R.). — Encyclopédie médico-chirurgicale. Pédiatrie I.
- MATTICK (A.-T.-R.) et HISCOSE (E.-R.). — De la nécessité de modifier le test des organismes coliformes dans le lait. *Agricult. Progress.*, volume XII, 1935.
- MATUSZENSKI (T.), NEYMANN (J.), PYANOWSKI et M^{lle} SUPINSKA (J.). — Une interprétation mathématique de l'épreuve de la réductase. *Le Lait*, 1935, n° 150.
- MAZZEO (M.). — La valeur de la pasteurisation basse au laboratoire en ce qui concerne le Bactérium Coli. *Riv. San. Sicil.*, 15 décem. 1938.
- MONVOISIN (A.). — Le lait : physiologie, analyse, utilisation.
- MULLER (J.). — La relation entre l'essai de réductase et la teneur en germes du lait. *Z. für Fleisch Milchhygiene*, 1934, I., XLV.
- MURRAY. — Epidémie d'origine lactée au Canada. *Canada Pub. Health Journal*, 1934 ; *B. O. I. H. P.*, février 1935.
- NEVOT (A.). — Lait cru. Lait pasteurisés. Catégorisation des laits.
- Les méthodes hygiéniques de contrôle du lait. *Thèse Paris*, 1930.
- Hygiène du lait, de la production à la consommation. *Hygiène sociale*, juillet 1932.
- Quelques opinions en matière d'hygiène laitière. *P. M.*, 7 juin 1939.

- NICHOLS (A.-A.) et EDWARDS (S.-J.). — Valeur comparative de la méthode de numération sur plaque et de l'essai de réduction du bleu de méthylène (Méthode modifiée comme procédé d'appréciation du lait). *Journal Off. of Dairy Research*, 1936, n° 3.
- ORLA JENSEN et WINTHER (M.-O.). — La réaction de Storch. *Milchwirtschaftliches Zentr.*, 1936, t. LXV.
- PAISSEAU. — Le lait condensé sucré, 1936.
- PANISSET (L.). — Un chapitre de l'hygiène du lait : la transmission de la fièvre aphteuse à l'homme. *An. de clinique et Pharmac.*, avril 1940.
- PARISOT (J.-P.), MELNOTTE, FERNIER (L.). — La colimétrie du lait. *Mouvement sanitaire*, 1938.
- PETTERSON. — La transmission des maladies dues au lait chez les enfants. *III° C. I. Pédiatrie*, Londres, juillet 1933.
- PLACIDI (L.). — L'approvisionnement en lait et le contrôle hygiénique du lait à Marseille. *Thèse Montpellier* 1928.
- RENNES (J.). — La question du lait.
— Le lait loyal et le lait hors du commerce, 1929.
- RIBADEAU - DUMAS. — Les gastro-entérites non spécifiques du nourrisson. *Bullet. Offic. Intern. Hygiène Publique*, août 1939.
- ROCHAIX (A.) et DELBOS (J.). — Sur la contagiosité de la fièvre aphteuse de l'animal à l'homme. *R. M.*, mai 1938.
- ROCHAIX (A.) et TAPERNOUX (A.). — Recherche de la contamination du lait par la méthode du rouge neutre. *An. Hygiène*, janvier 1933.
- ROSENOW. — Une épidémie de poliomyélite dans une institution apparemment due à un streptocoque dans le lait. *The Journal of infection Diseases*, 1932, t. L.
- ROWLANDS. — La mamelle, source possible de coli dans le lait. *Société d'Hygiène*, 4 juillet 1939.
- SAVAGE (W.). — Les effets de la pasteurisation ou les propriétés nutritives du lait. *The Lancet*, février 1933.
- TWIGG (R.-S.). — Système d'oxydation-réduction dans le lait. *Analyst.*, tome LXII, 1937.

VERNON SHAW. — Une épidémie de fièvre typhoïde provoquée par du lait cru. *Rep. Pub. Health Med. subj.*, 1937, n° 81.

VARIOT (G.) — La Puériculture pratique.

VASSILEF. — *Thèse* Lyon, 1931.

VELLY. — Actinisation du lait. *Rev. Path. Comp.*, juin 1937.

VIOLLE (H.). — Les microbes et le lait. *Le Lait*, 1924, n° 3.

WHITE. — La situation actuelle des Etats-Unis d'Amérique en ce qui concerne la tuberculose humaine d'origine bovine. *Off. I. H. P.*, août 1937.

ZAPATERO (E.). — Le contrôle hygiénique du lait. Une méthode pratique et simple de colimétrie. *Le Lait*, 1936, n° 157.

Table des Matières

INTRODUCTION	17
--------------------	----

CHAPITRE PREMIER

FLORE MICROBIENNE DU LAIT	19
<i>Contaminations intérieures</i>	19
<i>Contaminations extérieures</i>	21

CHAPITRE II

DANGER MICROBIEN DU LAIT	27
LES OBSERVATIONS	32

CHAPITRE III

PRÉPARATION INDUSTRIELLE DES LAITS	37
--	----

CHAPITRE IV

PRINCIPAUX PROCÉDÉS DE RECHERCHES POUR APPRÉCIER LA TENEUR BACTÉRIENNE D'UN LAIT	41
<i>Méthodes physiques</i>	41
<i>Méthodes biochimiques</i>	42
<i>Méthodes bactériologiques</i>	46
RÉSULTATS. — LEUR INTERPRÉTATION	53
<i>Ensemencement sur gélose</i>	56
<i>Identification des germes</i>	57
CONCLUSIONS	63
BIBLIOGRAPHIE	63

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !
